

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
20. Februar 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 03/013617 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 49/08, (74) Anwalt: LEDERER & KELLER; Prinzregentenstrasse 16, 80538 München (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/08000 (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum: 18. Juli 2002 (18.07.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 101 35 355.3 20. Juli 2001 (20.07.2001) DE
- (71) Anmelder: SCHERING AG [DE/DE]; Müllerstrasse 178, 13353 Berlin (DE).
- (72) Erfinder: PLATZEK, Johannes; Grottkauer Strasse 55, 12621 Berlin (DE). SCHMITT-WILLICH, Heribert; Görrestrasse 20, 12161 Berlin (DE). MICHL, Günther; Heinrich-Heine-Strasse 14, 15562 Rüdersdorf (DE). FRENZEL, Thomas; Paul-Schneider-Strasse 41, 12247 Berlin (DE). SÜLZLE, Detlev; Scheinerweg 4, 10589 Berlin (DE). BAUER, Hans; Maximilian-Kaller-Strasse 24, 12279 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd; Gollanczstrasse 132, 13465 Berlin (DE). WEINMANN, Hanns-Joachim; Westhofener Weg 23, 14129 Berlin (DE). SCHIRMER, Heiko; Hechelstrasse 11, 13403 Berlin (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:  
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: CONJUGATES OF MACROCYCLIC METAL COMPLEXES WITH BIOMOLECULES AND THE UTILIZATION THEREOF FOR PRODUCING AGENTS FOR USE IN NMR DIAGNOSIS AND RADIODIAGNOSIS AND RADIOTHERAPY

(54) Bezeichnung: KONJUGATE MAKROCYCLISCHER METALLKOMPLEX MIT BIOMOLEKÜLEN UND DEREN VERWENDUNG ZUR HERSTELLUNG VON MITTELEN FÜR NMR- UND RADIODIAGNOSTIK SOWIE DIE RADIOTHERAPIE

(57) Abstract: The invention relates to conjugates comprised of macrocyclic metal complexes with biomolecules and to the production thereof. The conjugates are suited for use as contrast agents in NMR diagnosis and radiodiagnosis and as agents for radiotherapy. A high relaxivity is achieved and a fine tuning of the relaxivity is made possible by a special liganding of the macrocycles.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Konjugate aus makrocyclischen Metallkomplexen mit Biomolekülen und deren Herstellung. Die Konjugate eignen sich als Kontrastmittel in der NMR- und Radiodiagnostik sowie als Mittel für die Radiotherapie. Durch eine spezielle Ligandierung der Makrocyclen wird eine hohe Relaxivität erreicht und ein Feintuning der Relaxivität ermöglicht.

BEST AVAILABLE COPY

WO 03/013617 A2

---

**Konjugate makrocyclischer Metallkomplexe mit Biomolekülen und deren  
Verwendung zur Herstellung von Mitteln für die NMR- und Radiodiagnostik sowie die  
Radiotherapie**

---

Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, d.h. Konjugate makrocyclischer Metallkomplexe. Die Konjugate eignen sich für die Herstellung von Mitteln, insbesondere Kontrastmitteln für die NMR- und Radiodiagnostik sowie von Mitteln für die Radiotherapie.

Voraussetzung für eine gezielte und erfolgreiche Therapie ist eine exakte Diagnose. Gerade auf dem diagnostischen Gebiet haben die Möglichkeiten in den vergangenen Jahren sehr stark zugenommen, wobei beispielsweise die NMR- und Röntgendiagnostik in der Lage sind, praktisch jedes anatomische Detail selektiv und mit großer Genauigkeit darzustellen. In vielen Fällen werden die entsprechenden Strukturen aber erst durch die Anwendung von Kontrastmitteln sichtbar. Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, die Kontrastmittel so auszugestalten, daß sie sich selektiv in den gewünschten Zielstrukturen anreichern. Hierdurch läßt sich die Genauigkeit der Bildgebung bei gleichzeitiger Verringerung der benötigten Kontrastmittelmenge erhöhen.

Als Kontrastmittel für die NMR-Diagnostik eignen sich Chelatkomplexe von paramagnetischen Metallen. Theorie und Anwendung von Gadolinium(III) Chelaten als NMR-Kontrastmittel sind in einem Übersichtsartikel von P. Caravan et al. in Chem. Rev. 1999, 99, 2293-2352 ausführlich erläutert.

Die Bildintensität im Protonen-NMR wird im wesentlichen durch die Wasserprotonen bestimmt. Sie hängt von den Kernrelaxationszeiten ab. Komplexe von paramagnetischen Übergangsmetallen und Lanthanoiden verkürzen die Relaxationszeiten von benachbarten Protonen durch dipolare Wechselwirkungen. Die paramagnetischen Kontrastmittel werden nicht direkt detektiert, sondern es erfolgt eine indirekte Detektion auf der Grundlage der Tatsache, daß die Kontrastmittel Relaxationszeiten von benachbarten Protonen wie Wasserprotonen verändern können. Aufgrund ihrer hohen magnetischen Momente und Relaxationseffizienz sind  $Gd^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$  und  $Mn^{2+}$  bevorzugte paramagnetische Metallkationen in der NMR-Diagnostik.

Eine wichtige physikalische Größe, welche das Relaxationsverhalten von Protonen beschreibt, ist die longitudinale Relaxationszeit  $T_1$ . Gewebe mit kurzen Relaxationszeiten  $T_1$  liefern im allgemeinen Bilder höherer Intensität als solche mit längeren Relaxationszeiten. Trägt man für ein bestimmtes paramagnetisches Ion den Reziprokwert der gemessenen Relaxationszeit  $T_1$  in Abhängigkeit von der Konzentration  $c$  auf, so erhält man Geraden der Steigung  $R$ . Diese Steigung nennt man auch Relaxivität, welche ein Maß für das Vermögen des entsprechenden paramagnetischen Ions ist, die Relaxationszeit der benachbarten Protonen zu verkürzen.

Die Anwendung von Radiopharmaka für diagnostische und therapeutische Zwecke ist ebenfalls seit langem im Bereich der biologischen und medizinischen Forschung bekannt. Insbesondere werden Radiopharmaka dazu benutzt, um bestimmte Strukturen wie beispielsweise das Skelett, Organe oder Gewebe darzustellen. Die diagnostische Anwendung setzt den Gebrauch solcher radioaktiver Mittel voraus, die sich nach Applikation spezifisch in den Strukturen im Patienten anreichern, die untersucht werden sollen. Diese sich lokal anreichernden radioaktiven Mittel können dann mittels geeigneter Detektoren, wie beispielsweise Szintillations-Kameras oder anderer geeigneter Aufnahmeverfahren, aufgespürt, geplottet oder szintigraphiert werden. Die Verteilung und relative Intensität des detektierten radioaktiven Mittels kennzeichnet den Ort einer Struktur, in dem sich das radioaktive Mittel befindet, und kann die Anwesenheit von Anomalien in Strukturen und Funktionen, pathologische Veränderungen etc. darstellen.

In ähnlicher Weise können Radiopharmaka als therapeutische Mittel angewendet werden, um bestimmte krankhafte Gewebe oder Bereiche zu bestrahlen. Solche Behandlung erfordert die Herstellung radioaktiver therapeutischer Mittel, die sich in bestimmten Strukturen, Organen oder Geweben anreichern.

Aufgrund ihrer zum Teil relativ hohen Giftigkeit werden die paramagnetischen Ionen im Regelfall nicht in Form von wasserlöslichen Salzen verabreicht, sondern in Form Chelatkomplexen. Diese können praktisch unverändert vom Körper ausgeschieden werden. Je kleiner die Komplexe in Lösung sind, desto geringer ist ihr Trägheitsmoment und desto schneller drehen sie sich in Lösung (Tumbling Motion Time). Je schneller ein Komplex rotiert, desto geringer ist seine Relaxivität. Die Relaxivität ist somit der Molekularmasse des gesamten Komplexes proportional. Ein gutes NMR-Kontrastmittel zeichnet sich unter anderem dadurch aus, daß es einen großen Wert für die Relaxivität hat.

Konjugate aus Gd-DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure) mit Albumin sind beispielsweise von M.D. Ogan et al. in Invest. Radiol. 1987, 22, 665-671 und U. Schmiedl et al. in Radiology 1987, 162, 205-210 beschrieben. Konjugate aus makrocyclischem Metallkomplexen und Biomolekülen sind in der WO 95/31444 offenbart. Zur Verbesserung der Selektivität von Kontrastmitteln schlägt die WO 01/08712 ein Kontrastmittel vor, das mindestens zwei Metallchelateinheiten als bildverbessernde Gruppen und mindestens zwei "Zielbindungseinheiten" zur Bindung des Kontrastmittelmoleküls an das gewünschte Zielmolekül oder Zielorgan im Körper umfaßt.

Große Kontrastmittelmoleküle mit hoher Molmasse werden gemäß der WO 97/02051 durch Einbau von makrocyclischen Metallkomplexen in Kaskadenpolymere erhalten.

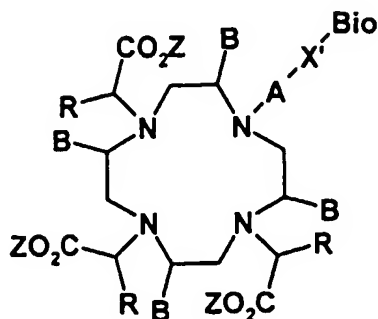
Tetraazacyclododecantetraessigsäurederivate hoher Stabilität und guter Löslichkeit aufgrund fehlender Ladung, die sich zur Anbindung an Biomoleküle eignen, sind in dem EP-A-0 565 930 beschrieben.

Die vorstehend beschriebene Anbindung von makrocyclischen Metallkomplexen an Biomoleküle ermöglicht sowohl eine Erhöhung der Relaxivität als auch der Selektivität des Kontrastmittels. Je höher die Relaxivität des Kontrastmittels ist, desto weniger Kontrastmittel muß dem Patienten verabreicht werden und desto höher ist die Kontrastgebung im Bild. Aus diesem Grund ist es weiterhin wünschenswert, NMR-Kontrastmittel mit möglichst hoher Relaxivität zur Verfügung zu stellen.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht somit darin, verbesserte Kontrastmittel für die NMR- und Radiodiagnostik sowie Mittel für die Radiotherapie zur Verfügung zu stellen. Insbesondere sollen diese NMR-Kontrastmittel eine möglichst hohe Relaxivität aufweisen und sich möglichst selektiv an einem gewünschten Ort im Körper anreichern.

Es wurde nun gefunden, daß diese Aufgabe überraschend dadurch gelöst werden kann, daß ein 1,4,7,10-Tetraazacyclododecanmakrocyclus mit speziellen Liganden versehen wird und dieser so ligandierte Makrocyclus an ein Biomolekül angebunden wird. Durch die spezielle Ligandierung des Makrocyclus wird die Relaxivität des erhaltenen Kontrastmittels erhöht und außerdem wird eine Feintuning der Relaxivität für eine gewünschte Anwendung möglich.

Die vorliegende Erfindung betrifft somit Konjugate der Formel I



worin

Z ein Wasserstoffatom darstellt oder mindestens zwei Z ein Metallionenäquivalent darstellen,

B ein Wasserstoffatom oder einen  $C_{1-4}$ -Alkylrest darstellt,

R ein Wasserstoffatom oder einen geraden, verzweigten oder cyclischen, gesättigten oder ungesättigten  $C_{1-10}$ -Alkyl- oder Arylrest darstellt, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe,  $-SO_3H$  oder  $-PO_3H_2$  substituiert ist, und wobei die Alkylkette des  $C_{1-10}$ -Alkylrestes gegebenenfalls eine Arylgruppe und/oder 1-2 Sauerstoffatome enthält, mit der Maßgabe, daß die Reste B und R nicht beide gleichzeitig Wasserstoffatome darstellen,

A eine gerade oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte  $C_{1-30}$ -Kohlenwasserstoffkette darstellt, die gegebenenfalls 1-5 Sauerstoffatome, 1-5 Stickstoffatome und/oder 1-5 -NR'-Reste, worin R' wie R definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann, enthält, die gegebenenfalls mit 1-3 Carboxylgruppen, 1-3  $-SO_3H$ , 1-3  $-PO_3H_2$  und/oder 1-3 Halogenatomen substituiert ist, bei der gegebenenfalls 1-3 Kohlenstoffatome als Carbonylgruppen vorliegen, wobei die Kette oder ein Teil der Kette ringförmig angeordnet sein kann, und die so ausgestaltet ist, daß X' über mindestens 3 Atome mit dem Stickstoffatom, an das A gebunden ist, verbunden ist,

X' den Rest einer Gruppe X darstellt, die mit einem Biomolekül eine Reaktion eingegangen ist, und Bio den Rest eines Biomoleküls darstellt, sowie deren Salze und deren Verwendung zur Herstellung von Mitteln für die NMR- und Radiodiagnostik sowie die Radiotherapie.

Konjugate mit makrocyclischen Verbindungen, in denen A ein Rest  $-\text{CH}(\text{R}_3)-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{NH}-\text{D}-$  ist, waren aus der EP-A-0 565 930 bekannt. Diese Konjugate sind daher in Anspruch 1 ausgenommen.

Wenn nicht anders angegeben wird vorliegend unter "Alkylrest" ein gesättigter oder ungesättigter, gradkettiger oder verzweigter oder cyclischer Alkylrest mit der angegebenen Anzahl von Kohlenstoffatomen verstanden. Wenn dieser Rest weitere Gruppen oder Atome enthalten kann, wird darunter vorliegend verstanden, daß die weiteren Gruppen oder Atome zusätzlich zu den bereits vorhandenen Atomen des Restes vorliegen und an einer beliebigen Position des Restes einschließlich der terminalen Positionen eingefügt sein können.

Unter "Aryl" wird vorliegend vorzugsweise Phenyl, Bisphenyl, Pyridyl, Furanyl, Pyrrolyl und Imidazolyl verstanden. Besonders bevorzugt ist Phenyl.

Unter "Kohlenwasserstoffkette", die ganz oder teilweise ringförmig angeordnet sein kann, wird vorliegend vorzugsweise eine Kohlenwasserstoffkette wie beispielsweise eine Alkylkette verstanden, die beispielsweise einen aliphatischen oder aromatischen gegebenenfalls heterocyclischen 5- oder 6-Ring (z.B. Phenyl(en), Pyridyl(en) oder Cyclohexyl(en)) umfassen kann oder daraus besteht.

In den erfindungsgemäßen Konjugaten der Formel I sind drei der vier Stickstoffatome des makrocyclischen Rings mit gegebenenfalls substituierten Essigsäure- bzw. Carboxylatmethylresten substituiert. Diese Reste tragen zur Koordination bzw. zum Ladungsausgleich eines koordinierten Metallions bei. Daher steht Z entweder für ein Wasserstoffatom oder ein Metallionenäquivalent.

Die Essigsäure- bzw. Carboxylatmethylreste an drei der Stickstoffatome des makrocyclischen Rings können zusätzlich einen Substituenten R aufweisen. Darüber hinaus kann der makrocyclische Ring an vier seiner Kohlenstoffatome einen weiteren Substituenten B aufweisen. Eine Besonderheit der erfindungsgemäßen Konjugate besteht darin, daß B und R nicht beide gleichzeitig Wasserstoffatome darstellen können, d.h. daß der makrocyclische Ring entweder direkt an seinen Ringatomen und/oder an den Essigsäure- bzw. Carboxylatmethylsubstituenten seiner Stickstoffatome weitere Substituenten aufweisen muß. Durch die geeignete Wahl dieser zusätzlichen Substituenten

erfolgt das gewünschte Feintuning der Relaxivität eines unter Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindung hergestellten Kontrastmittels.

B kann ein Wasserstoffatom oder ein C<sub>1-4</sub>-Alkylrest sein. Bevorzugte C<sub>1-4</sub>-Alkylreste sind Methyl, Ethyl und iso-Propyl.

Falls in den erfindungsgemäßen Konjugaten der Formel I B ein Wasserstoffatom ist, steht R für einen geraden, verzweigten und/oder cyclischen, gesättigten oder ungesättigten C<sub>1-10</sub>-Alkyl- (vorzugsweise C<sub>5-10</sub>-Alkyl-) oder Arylrest, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> substituiert ist, und wobei die Alkylkette des C<sub>1-10</sub>-Alkylrestes gegebenenfalls eine Arylgruppe und/oder 1-2 Sauerstoffatome enthält. Als Alkylreste sind geradkettige oder verzweigte, vorzugsweise gesättigte C<sub>1-10</sub>- und insbesondere C<sub>1-4</sub>-Alkylreste, wie Methyl, Ethyl, n-Propyl, iso-Propyl, n-Butyl, iso-Butyl und tert.-Butyl, sowie Cyclohexyl bevorzugt. Alternativ sind geradkettige, verzweigte oder cyclische, vorzugsweise gesättigte C<sub>5-10</sub>-Alkylreste wie Pentyl, Hexyl, Cyclohexyl, Heptyl, Octyl, Nonyl und Decyl bevorzugt. Der C<sub>1-10</sub>-Alkylrest für R kann gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> substituiert sein. Bevorzugte Beispiele derartiger substituierter Alkylgruppen sind -CH<sub>2</sub>-COOH und -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-COOH. Darüber hinaus kann die Alkylkette des C<sub>1-10</sub>-Alkylrestes eine Arylgruppe und/oder 1-2 Sauerstoffatome enthalten. Die Arylgruppe und die Sauerstoffatome können an beliebiger Stelle innerhalb der Alkylkette vorliegen. Die Arylgruppe kann zudem auch endständig an der Alkylkette angeordnet sein und zusammen mit einem Sauerstoffatom eine Aryloxygruppe bilden. Als Arylgruppe eignet sich insbesondere eine Phenylgruppe.

Eine bevorzugte Alkylkette für R, die gegebenenfalls eine Arylgruppe und 1-2 Sauerstoffatome enthält, ist ein Rest der Formel -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(O)<sub>n</sub>-(Phenylen)<sub>p</sub>-Y, worin m eine ganze Zahl von 1-5 ist, n 0 oder 1 ist, p 0 oder 1 ist und Y ein Wasserstoffatom, ein Methoxyrest, eine Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> ist. Der Substituent Y befindet sich dabei vorzugsweise in para-Position.

Der Arylrest für R ist vorzugsweise ein Phenylrest, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> substituiert ist.

Vorzugsweise steht R, wenn B ein Wasserstoffatom ist, für Isopropyl, Isobutyl, tert.-Butyl, einen geradkettigen oder verzweigten C<sub>5-10</sub>-Alkylrest, Cyclohexyl, -CH<sub>2</sub>-COOH, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-COOH, einen Phenylrest oder einen Rest der Formel -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(O)<sub>n</sub>-(Phenylen)<sub>p</sub>-Y, worin m

eine ganze Zahl von 1 bis 5 ist, n 0 oder 1 ist, p 0 oder 1 ist und Y ein Wasserstoffatom, einen Methoxyrest, eine Carboxylgruppe,  $-\text{SO}_3\text{H}$  oder  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  darstellt, und besonders bevorzugt für Isopropyl, Cyclohexyl oder Phenyl.

Der substituierte makrocyclische Ring des Konjugats der Formel I ist mittels einer Gruppe X, die mit einem Biomolekül eine Reaktion eingehen kann, über einen Spacer A an ein Biomolekül angebunden worden.

Der Spacer A stellt dabei eine gerade oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte  $\text{C}_{1-30}$  Kohlenwasserstoffkette dar, die gegebenenfalls 1-5 Sauerstoffatome, 1-5 Stickstoffatome und/oder 1-5  $-\text{NR}'$ -Reste, worin R' wie vorstehend R definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann, enthält, die gegebenenfalls mit 1-3 Carboxylgruppen, 1-3  $-\text{SO}_3\text{H}$ , 1-3  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  und/oder 1-3 Halogenatomen substituiert ist, bei der gegebenenfalls 1-3 Kohlenstoffatome als Carbonylgruppen vorliegen, wobei die Kette oder ein Teil der Kette ringförmig angeordnet sein kann, und die so ausgestaltet ist, daß X' über mindestens 3 Atome mit dem Stickstoffatom, an das A gebunden ist, verbunden ist.

Der Spacer soll mindestens drei Atome und vorzugsweise mindestens vier Atome in einer Kette zwischen dem Stickstoffatom des makrocyclischen Rings und X' aufweisen. Als Kette von Atomen wird dabei die kürzeste Verbindung zwischen dem Stickstoffatom des makrocyclischen Rings und X' auch über einen Ring hinweg verstanden. Im Sinne dieser Definition würde beispielsweise eine para-Phenylengruppe als Spacer mit vier Atomen in einer Kette angesehen und eine meta-Phenylengruppe als Spacer mit drei Atomen in einer Kette. Bei der Bestimmung der Länge der Atomkette werden Kohlenstoff-, Stickstoff- und Sauerstoffatome gleichmäßig jeweils als ein Atom gerechnet. Substituenten an diesen Atomen oder Seitenketten gehören nicht zur Anzahl der Atome innerhalb der Kette.

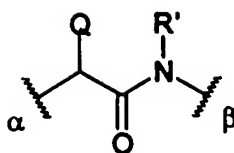
Bevorzugt wird  $-\text{A}-\text{X}$  abweichend von den Substituenten  $-\text{CH}(\text{R})-\text{CO}_2\text{Z}$  gewählt.

Vorzugsweise läßt sich der Spacer A als ein Rest A'-U darstellen, worin A' an das Stickstoffatom des makrocyclischen Rings und U an X' gebunden ist. Hierin ist A' vorzugsweise

- a) eine Bindung,
- b)  $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-$ ,
- c) eine Gruppe der Formel



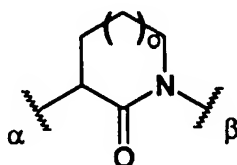
8




worin Q ein Wasserstoffatom, einen C<sub>1-10</sub>-Alkylrest, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe substituiert ist, oder einen Arylrest darstellt, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe, einer C<sub>1-15</sub>-Alkoxygruppe, einer Aryloxygruppe oder einem Halogenatom substituiert ist, und R' wie R definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann,

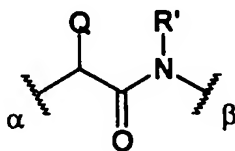
oder

d) eine Gruppe der Formel



worin o 0 oder 1 ist, und der Ring gegebenenfalls mit einem Benzolring anelliert ist, wobei dieser Benzolring, falls vorhanden, mit einer Methoxy- oder Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> substituiert sein kann. In den vorstehenden Gruppen unter c) und d) sind die an den mit  gekennzeichneten Positionen an die benachbarten Gruppen gebunden und die Position α ist an ein Stickstoffatom des makrocyclischen Rings und die Position β an U gebunden.

In der Gruppe der Formel

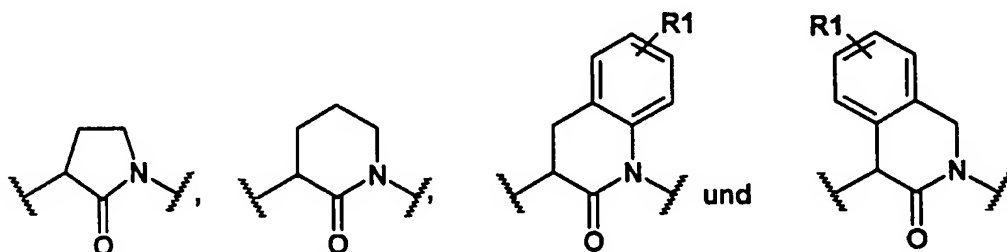


ist Q vorzugsweise ein linearer oder verzweigter C<sub>1-10</sub>-, insbesondere C<sub>1-4</sub>-Alkylrest, wie Methyl, Ethyl oder iso-Propyl, oder ein Cyclohexylrest. Diese Reste können gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe substituiert sein, wobei ein Carboxymethylrest bevorzugt wird. Der bevorzugte Arylrest für Q ist Phenyl. Dieser Arylrest kann mit einer Carboxylgruppe, einer C<sub>1-15</sub>-Alkoxygruppe, einer Aryloxygruppe, wie insbesondere einer Phenoxygruppe

oder einem Halogenatom, wie Fluor, Chlor, Brom oder Iod und insbesondere Fluor oder Chlor substituiert sein. Wenn der Arylrest ein Phenylrest ist, ist dieser vorzugsweise in para-Stellung mit einer der genannten Gruppen substituiert. Besonders bevorzugte Gruppen für Q sind Methyl, Phenyl und p-Dodecanoxyphenyl.

R' ist wie vorstehend R definiert, kann aber unabhängig von R gewählt werden. Besonders bevorzugt ist R' ein Wasserstoffatom.

Vorzugsweise ist A' ausgewählt aus einer Bindung,  $-\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})-$ ,  $-\text{C}(\text{CH}_3)\text{H}-\text{CO}-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{Phenyl})\text{H}-\text{CO}-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{p-Dodecanoxyphenyl})\text{H}-\text{CO}-\text{NH}-$ ,

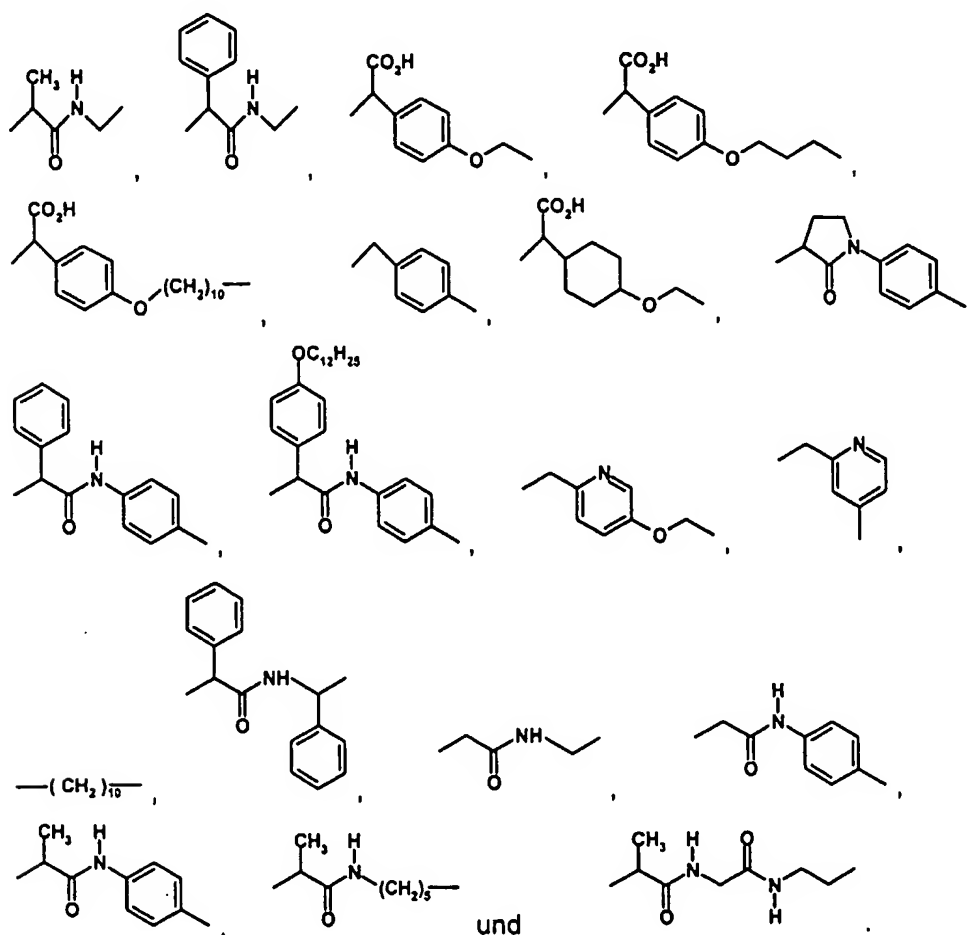


worin R<sup>1</sup>  $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  oder  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  ist.

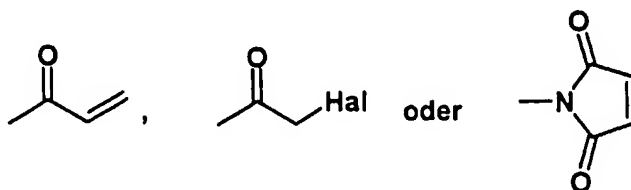
Wenn der Spacer A als ein Rest A'-U dargestellt wird und A' die vorstehend definierte Bedeutung hat, ist U vorzugsweise eine gerade oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C<sub>1-30</sub>-Kohlenwasserstoffkette, die gegebenenfalls 1-3 Sauerstoffatome, 1-3 Stickstoffatome und/oder 1-3 -NR"-Rest, worin R" wie vorstehend R definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann, enthält und bei der gegebenenfalls 1-3 Kohlenstoffatome als Carbonylgruppen vorliegen, wobei die Kette oder ein Teil der Kette ringförmig angeordnet sein kann. Besonders bevorzugt ist U ein Arylrest oder ein C<sub>1-20</sub>-Alkylrest (vorzugsweise geradlinig oder zumindest teilweise cyclisch und gesättigt) der gegebenenfalls 1-3 Sauerstoffatome, 1-3 -NR"-Reste, 1-2 Phenylenreste und/oder einen Pyridylenrest enthält, bei dem gegebenenfalls 1-3 Kohlenstoffatome als Carbonylgruppen vorliegen, und der gegebenenfalls mit einem Arylrest (z.B. Phenyl) substituiert ist. A' und U müssen zusammen so ausgestaltet sind, daß X' über mindestens drei Atome mit dem Stickstoffatom, an das A' gebunden ist, verbunden ist. Die Kette von mindestens drei Atomen ist wie vorstehend zu A definiert.

Der Arylrest für U ist vorzugsweise ein Phenylrest. Der C<sub>1-20</sub>-Alkylrest für U ist vorzugsweise ein linearer, gesättigter C<sub>1-10</sub>-Alkylrest, Cyclohexylrest oder Cyclohexyl-C<sub>1-5</sub>-alkylrest. Die Alkylreste dieser Reste können gegebenenfalls durch 1 Sauerstoffatom, 1 Phenylenrest und/oder 1 Pyridylenrest unterbrochen sein oder einen -CO-NR"-Rest enthalten oder mit Phenyl substituiert sein. Bevorzugt wird U ausgewählt aus -CH<sub>2</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-, -(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>-, -Phenylen-O-CH<sub>2</sub>-, -Phenylen-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-, -Phenylen-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>-, -CH<sub>2</sub>-Phenylen-, -Cyclohexylen-O-CH<sub>2</sub>-, -Phenylen-, -C(Phenyl)H-, -CH<sub>2</sub>-Pyridylen-O-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-Pyridylen- und -CH<sub>2</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-. In den vorgenannten bevorzugten Gruppen für U sind die Phenylengruppen vorzugsweise in para-Stellung substituiert und bei den Pyridylengruppen handelt es sich vorzugsweise um Pyrid-2,5-ylen- oder Pyrid-2,4-ylen-Gruppen.

Bevorzugte Gruppen für den Spacer A sind:

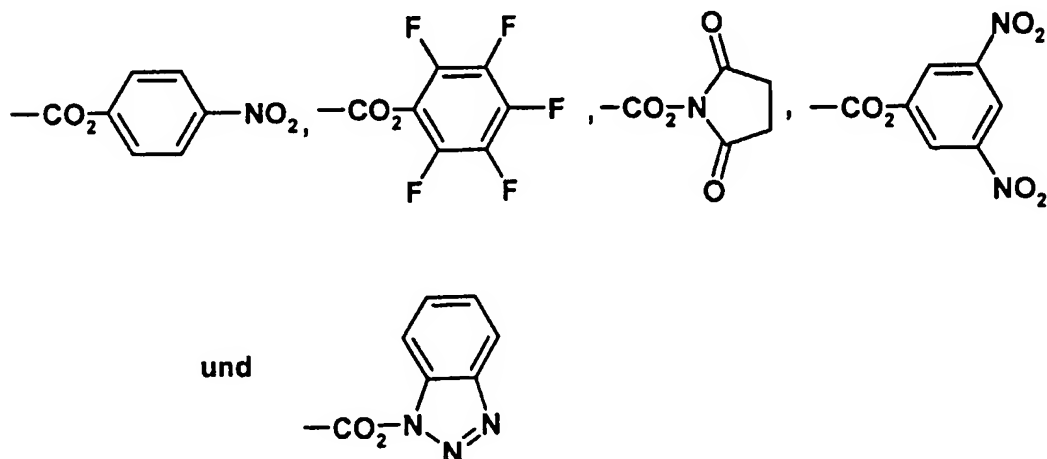


Über den Spacer A ist eine Gruppe X' an den makrocyclischen Ring in dem Konjugat der Formel I angebunden. Bei dieser Gruppe X' handelt es sich um den Rest einer Gruppe X, die mit einem Biomolekül eine Reaktion eingegangen ist. Beispielsweise eignet sich für X Carboxyl (-COOH), aktiviertes Carboxyl, Amino (-NH<sub>2</sub>), Isocyanat (-NCO), Isothiocyanat (-NCS), Hydrazin (-NHNH<sub>2</sub>), Semicarbazid (-NHCONHNH<sub>2</sub>), Thiosemicarbazid (-NHCSNHNH<sub>2</sub>), Chloracetamid (-NHCOCH<sub>2</sub>Cl), Bromacetamid (-NHCOCH<sub>2</sub>Br), Iodacetamid (-NHCOCH<sub>2</sub>I), Acylamino, wie beispielsweise Acetylamino (-NHCOCH<sub>3</sub>), gemischte Anhydride, Azid, Hydroxid, Sulfonylchlorid, Carbodiimid oder eine Gruppe der Formeln



worin Hal ein Halogenatom darstellt.

Unter aktivierter Carboxylgruppe werden vorstehend solche Carboxylgruppen verstanden, die so derivatisiert sind, daß sie die Reaktion mit einem Biomolekül erleichtern. Welche Gruppen zur Aktivierung verwendet werden können, ist bekannt und es kann beispielsweise auf M. und A. Bodanszky, "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag 1984 verwiesen werden. Beispiele sind Adukte der Carbonsäure mit Carbodiimiden oder aktivierter Ester wie z.B. Hydroxybenzotriazolester. Besonders bevorzugt wird die aktivierte Carboxylgruppe für X ausgewählt aus



In der Formel I steht Z für ein Wasserstoffatom oder ein Metallionäquivalent. Welches Metallion in dem erfindungsgemäßen Konjugat komplexiert vorliegen soll, hängt von der beabsichtigten Anwendung der Konjugate ab. Entsprechende Konjugate eignen sich beispielsweise für die NMR-Diagnostik, die Radiodiagnostik und Radiotherapie und die Neutroneneinfangtherapie. Besonders bevorzugt werden die Konjugate in der NMR-Diagnostik als Kontrastmittel eingesetzt.

Die Herstellung von Komplexen für die NMR-Diagnostik kann in der Weise erfolgen, wie sie in den Patentschriften EP 71564, EP 130934 und DE-OS 34 01 052 offenbart worden ist. Dazu wird das Metalloxid oder ein Metallsalz (beispielsweise ein Chlorid, Nitrat, Acetat, Carbonat oder Sulfat) des gewünschten Elements in Wasser und/oder einem niederen Alkohol (wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol) gelöst oder suspendiert und mit der Lösung oder Suspension der äquivalenten Menge des erfindungsgemäßen Komplexbildners umgesetzt.

Sollen die Komplexbildner zur Herstellung von Radiodiagnostika oder -therapeutika Verwendung finden, kann die Herstellung der Komplexe aus den Komplexbildnern nach den in "Radiotracers for Medical Applications", Vol I, CRC Press, Boca Raton, Florida beschriebenen Methoden erfolgen.

Es kann wünschenswert sein, den Komplex erst kurz vor seiner Verwendung herzustellen, insbesondere, wenn er als Radiopharmakon eingesetzt werden soll. Daher umfaßt die Erfindung auch einen Kit zur Herstellung von Radiopharmaka, umfassend ein Konjugat der Formel I, worin Z Wasserstoff ist, und eine Verbindung eines gewünschten Metalls.

Gegenstand der Erfindung sind ferner pharmazeutische Mittel, die mindestens ein physiologisch verträgliches Konjugat der allgemeinen Formel I enthalten, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt in an sich bekannter Weise, indem man die erfindungsgemäßen Konjugate - gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze - in wäßrigem Medium suspendiert oder löst und anschließend die Suspension oder Lösung gegebenenfalls sterilisiert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie z.B. Tromethamin), Zusätze von Komplexbildnern oder schwachen Komplexen (wie z.B. Diethylentriaminpentaessigsäure oder die zu den erfindungsgemäßen Metallkomplexen

korrespondierenden Ca-Komplexe) oder - falls erforderlich - Elektrolyte wie z.B. Natriumchlorid oder - falls erforderlich - Antioxidantien wie z.B. Ascorbinsäure.

Sind für die enterale Verabreichung oder andere Zwecke Suspensionen oder Lösungen der erfindungsgemäßen Mittel in Wasser oder physiologischer Salzlösung erwünscht, werden sie mit einem oder mehreren in der Galenik üblichen Hilfsstoff(en) [z.B. Methylcellulose, Lactose, Mannit] und/oder Tensid(en) [z.B. Lecithine, Tween®, Myrj®] und/oder Aromastoff(en) zur Geschmackskorrektur [z.B. ätherischen Ölen] gemischt.

Prinzipiell ist es auch möglich, die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel auch ohne Isolierung der Komplexsalze herzustellen. In jedem Fall muß besondere Sorgfalt darauf verwendet werden, die Chelatbildung so vorzunehmen, daß die erfindungsgemäßen Salze und Salzlösungen praktisch frei sind von nicht komplexierten toxisch wirkenden Metallionen.

Dies kann beispielsweise mit Hilfe von Farbindikatoren wie Xylenolorange durch Kontrolltitrationen während des Herstellungsprozesses gewährleistet werden. Die Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung der Komplexverbindungen und ihrer Salze. Als letzte Sicherheit bleibt eine Reinigung des isolierten Komplexsalzes.

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel enthalten vorzugsweise 1 fMol-1,3 Mol/l des Komplexsalzes und werden in der Regel in Mengen von 0,0001-5 mMol/kg dosiert. Sie sind zur enteralen und parenteralen Applikation bestimmt.

Die erfindungsgemäßen Konjugate kommen zur Anwendung

1. für die NMR-Diagnostik in Form ihrer Komplexe mit den Ionen der paramagnetischen Elemente mit den Ordnungszahlen 21-29, 42, 44 und 58-70. Geeignete Ionen sind beispielsweise das Chrom(III)-, Eisen(II)-, Cobalt(II), Nickel(II)-, Kupfer(II)-, Praseodym(III)-, Neodym(III)-, Samarium(III)- und Ytterbium(III)-ion. Wegen ihres starken magnetischen Moments sind für die NMR-Diagnostik besonders bevorzugt das Gadolinium(III)-, Terbium(III)-, Dysprosium(III)-, Holmium(III)-, Erbium(III)-, Mangan(II)- und Eisen(III)-ion.
2. für die Radiodiagnostik und Radiotherapie in Form ihrer Komplexe mit den Radioisotopen der Elemente mit den Ordnungszahlen 26, 27, 29, 31, 32, 37-39, 43, 46, 47, 49, 61, 62, 64, 67, 70, 71, 75, 77, 82 und 83.

Die erfindungsgemäßen Konjugate erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen für die Eignung als Kontrastmittel für die Kernspintomographie. So sind sie hervorragend dazu geeignet, nach oraler oder parenteraler Applikation durch Erhöhung der Signalintensität das mit Hilfe des Kernspintomographen erhaltene Bild in seiner Aussagekraft zu verbessern. Ferner zeigen sie die hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten, und die gute Verträglichkeit, die notwendig ist, um den nichtinvasiven Charakter der Untersuchungen aufrechtzuerhalten.

Die gute Wasserlöslichkeit und geringe Osmolalität der erfindungsgemäßen Konjugate erlaubt es, hochkonzentrierte Lösungen herzustellen, damit die Volumenbelastung des Kreislaufs in vertretbaren Grenzen zu halten und die Verdünnung durch die Körperflüssigkeit auszugleichen, das heißt NMR-Diagnostika müssen 100- bis 1000fach besser wasserlöslich sein als für die NMR-Spektroskopie. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Konjugate nicht nur eine hohe Stabilität in vitro auf, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in vivo, so daß eine Freigabe oder ein Austausch der in den Komplexen nicht kovalent gebundenen - an sich giftigen - Ionen innerhalb der Zeit, in der die neuen Kontrastmittel vollständig wieder ausgeschieden werden, nur äußerst langsam erfolgt.

Im allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Mittel für die Anwendung als NMR-Diagnostika in Mengen von 0,0001-5 mMol/kg, vorzugsweise 0,005-0,5 mMol/kg, dosiert. Details der Anwendung werden z.B. in H.-J. Weinmann et al., Am. J. of Roentgenology 142, 619 (1984) diskutiert.

Niedrige Dosierungen (unter 1 mg/kg Körpergewicht) von organspezifischen NMR-Diagnostika sind zum Beispiel zum Nachweis von Tumoren und von Herzinfarkt einsetzbar. Besonders niedrige Dosierungen der erfindungsgemäßen Komplexe sind für die Anwendung in der Radiotherapie und Radiodiagnostik geeignet.

Bei der in vivo-Applikation der erfindungsgemäßen therapeutischen Mittel können diese zusammen mit einem geeigneten Träger wie z.B. Serum oder physiologischer Kochsalzlösung und zusammen mit einem anderen Protein wie z.B. Human Serum Albumin verabreicht werden. Die Dosierung ist dabei abhängig von der Art der zellulären Störung, dem benutzten Metallion und der Art der bildgebenden Methode.

Die erfindungsgemäßen therapeutischen Mittel werden parenteral, vorzugsweise i.v., appliziert.

Details der Anwendungen von Radiotherapeutika werden z.B. in R. W. Kozak et al. TIBTEC, Oktober 1986, 262, diskutiert (s. a. Bioconjugate Chem. 12 (2001) 7-34).

Ferner können die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen vorteilhaft als Suszeptibilitäts-Reagenzien und als shift-Reagenzien für die in vivo-NMR-Spektroskopie verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Konjugate sind aufgrund ihrer günstigen radioaktiven Eigenschaften und der guten Stabilität der in ihnen enthaltenen Komplexverbindungen auch als Radiodiagnostika und Radiotherapeutika geeignet. Details ihrer Anwendung und Dosierung werden z.B. in "Radiotracers for Medical Applications", CRC-Press, Boca Raton, Florida 1983, sowie in Eur. J. Nucl. Med. 17 (1990) 346-364 und Chem. Rev. 93 (1993) 1137-1156 beschrieben.

Für SPECT geeignet sind die Komplexe mit den Isotopen  $^{111}\text{In}$  und  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

Eine weitere bildgebende Methode mit Radioisotopen ist die Positronen-Emissions-Tomographie, die positronenemittierende Isotope wie z.B.  $^{43}\text{Sc}$ ,  $^{44}\text{Sc}$ ,  $^{52}\text{Fe}$ ,  $^{55}\text{Co}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{86}\text{Y}$  und  $^{94\text{m}}\text{Tc}$  verwendet (Heiss, W.D.; Phelps, M.E.; Positron Emission Tomography of Brain, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1983).

Die erfindungsgemäßen Konjugate sind überraschenderweise auch zur Differenzierung von malignen und benignen Tumoren in Bereichen ohne Blut-Hirn-Schranke geeignet.

Sie zeichnen sich auch dadurch aus, daß sie vollständig aus dem Körper eliminiert werden und somit gut verträglich sind.

Da sich die erfindungsgemäßen Konjugate in malignen Tumoren anreichern (keine Diffusion in gesunde Gewebe, aber hohe Durchlässigkeit von Tumorgefäßen), können sie auch die Strahlentherapie von malignen Tumoren unterstützen. Diese unterscheidet sich von der entsprechenden Diagnostik nur durch die Menge und Art des verwendeten Isotops. Ziel ist dabei, die Zerstörung von Tumorzellen durch energiereiche kurzwellige Strahlung mit einer möglichst geringen Reichweite. Hierzu werden Wechselwirkungen der in den



Komplexen enthaltenen Metalle (wie z.B. Eisen oder Gadolinium) mit ionisierenden Strahlungen (z.B. Röntgenstrahlen) oder mit Neutronenstrahlen ausgenutzt. Durch diesen Effekt wird die lokale Strahlendosis am Ort, wo sich der Metallkomplex befindet (z.B. in Tumoren) signifikant erhöht. Um die gleiche Strahlendosis im malignen Gewebe zu erzeugen, kann bei Anwendung solcher Metallkomplexe die Strahlenbelastung für gesunde Gewebe erheblich reduziert und damit belastende Nebenwirkungen für die Patienten vermieden werden. Die erfindungsgemäßen Metallkomplex-Konjugate eignen sich deshalb auch als radiosensibilisierende Substanz bei der Strahlentherapie von malignen Tumoren (z.B. Ausnutzen von Mössbauer-Effekten oder bei Neutroneneinfangtherapie). Geeignete  $\beta$ -emittierende Ionen sind z.B.  $^{46}\text{Sc}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{48}\text{Sc}$ ,  $^{72}\text{Ga}$ ,  $^{73}\text{Ga}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{111}\text{Ag}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186}\text{Re}$  und  $^{188}\text{Re}$ . Bevorzugt werden  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{72}\text{Ga}$ ,  $^{153}\text{Sm}$  und  $^{67}\text{Cu}$ . Geeignete geringe Halbwertszeiten aufweisende  $\alpha$ -emittierende Ionen sind z.B.  $^{211}\text{At}$ ,  $^{211}\text{Bi}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$  und  $^{214}\text{Bi}$ , wobei  $^{212}\text{Bi}$  bevorzugt ist. Ein geeignetes Photonen- und Elektronen-emittierendes Ion ist  $^{158}\text{Gd}$ , das aus  $^{157}\text{Gd}$  durch Neutroneneinfang erhalten werden kann.

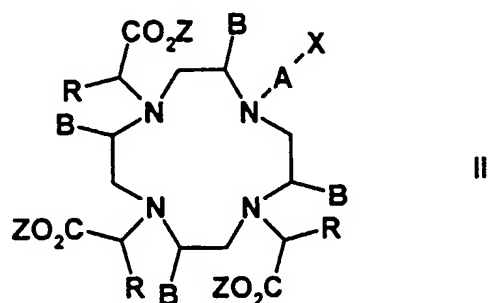
Ist die erfindungsgemäße Konjugate zur Anwendung in der von R. L. Mills et al. [Nature Vol. 336, (1988), S. 787] vorgeschlagenen Variante der Strahlentherapie bestimmt, so muß sich das Zentralion von einem Mößbauer-Isotop wie beispielsweise  $^{57}\text{Fe}$  oder  $^{151}\text{Eu}$  ableiten.

Die Neutralisation eventuell noch vorhandener freier Carboxygruppen erfolgt mit Hilfe anorganischer Basen (z.B. Hydroxyden, Carbonaten oder Bicarbonaten) von z.B. Natrium, Kalium, Lithium, Magnesium oder Calcium und/oder organischer Basen wie unter anderem primärer, sekundärer und tertiärer Amine, wie z.B. Ethanolamin, Morpholin, Glucamin, N-Methyl- und N,N-Dimethylglucamin, sowie basischer Aminosäuren, wie z.B. Lysin, Arginin und Ornithin oder von Amid-ursprüngliche neutraler oder saurer Aminosäuren.

Zur Herstellung der neutralen Komplexverbindungen kann man beispielsweise in sauren Komplexsalzen in wäßriger Lösung oder Suspension soviel der gewünschten Base zusetzen, daß der Neutralpunkt erreicht wird. Die erhaltene Lösung kann anschließend im Vakuum zur Trockne eingeengt werden. Häufig ist es von Vorteil, die gebildeten Neutralsalze durch Zugabe von mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln, wie z.B. niederen Alkoholen (Methanol, Ethanol, Isopropanol und andere), niederen Ketonen (Aceton und andere), polaren Ethern (Tetrahydrofuran, Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan und andere) auszufällen und so leicht zu isolierende und gut zu reinigende Kristallisate zu erhalten. Als besonders vorteilhaft hat es sich erwiesen, die gewünschte Base bereits während der

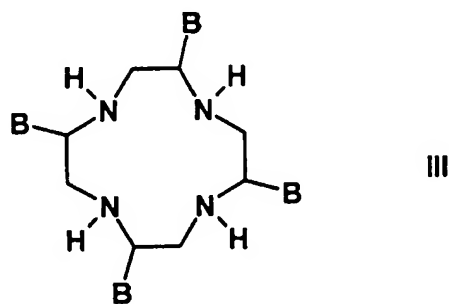
Komplexbildung der Reaktionsmischung zuzusetzen und dadurch einen Verfahrensschritt einzusparen.

Die erfindungsgemäßen Konjugate der Formel I lassen sich nach dem Fachmann bekannten Verfahren herstellen. Beispielsweise könne die Konjugate der Formel I durch ein Verfahren erhalten werden, worin eine Verbindung der Formel II



worin Z, B, R und A wie vorstehend definiert sind und X eine Gruppe darstellt, die mit einem Biomolekül eine Reaktion eingehen kann, mit einem Biomolekül umgesetzt wird und anschließend wenn gewünscht in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines gewünschten Elements umgesetzt wird und gegebenenfalls anschließend in den so erhaltenen Komplexen noch vorhandene acide Wasserstoffatome ganz oder teilweise durch Kationen von anorganischen und/oder organischen Basen, Aminosäuren oder Aminosäureamiden substituiert werden.

Die Verbindungen der Formel II können beispielsweise durch ein Verfahren erhalten werden, worin eine Verbindung der Formel III

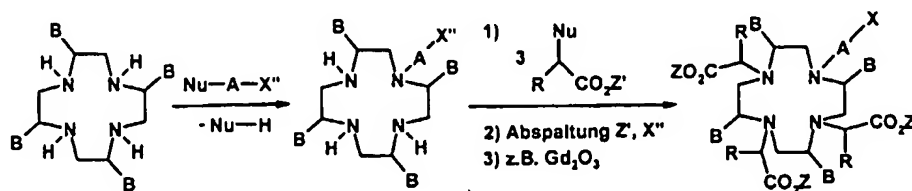


worin B wie oben definiert ist gegebenenfalls nach Einführung von Schutzgruppen für die Stickstoffatome mit Nu-A-X" und Nu-CH(R)-CO<sub>2</sub>Z' umgesetzt wird, wobei A und R wie oben

definiert sind und Nu ein Nucleofug ist, X'' für X oder eine geschützte Form von X steht und X wie oben definiert ist und Z' für ein Wasserstoffatom, ein Metallionenäquivalent, vorzugsweise von einem Alkali- oder Erdalkalimetall wie insbesondere Natrium oder Kalium, oder eine Schutzgruppe für Carboxyl steht. Anschließend können die gegebenenfalls vorhandenen Schutzgruppen entfernt werden und es kann in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines gewünschten Elements umgesetzt werden. Gegebenenfalls können anschließend in den so erhaltenen Komplexen noch vorhandene acide Wasserstoffatome ganz oder teilweise durch Kationen von anorganischen und/oder organischen Basen, Aminosäuren oder Aminosäureamiden substituiert werden.

Drei bevorzugte Verfahrensvarianten für die Synthese der Verbindungen der Formel II werden nachfolgend näher beschrieben:

In der ersten Variante wird zunächst der an den Stickstoffen unsubstituierte Makrocyclus mit der geschützten Einheit AX'' umgesetzt. Die Gruppe A trägt dabei als Abgangsgruppe ein Nucleofug. Durch stöchiometrische Reaktionskontrolle reagiert eines der vier Stickstoffatome im Makrocyclus mit der Gruppe A unter Austritt der Abgangsgruppe. Auf diese Weise erhält man einen monofunktionalisierten Makrocyclus, welcher den Rest X in geschützter Form (X'') enthält. Im zweiten Reaktionsschritt werden die verbliebenen drei nukleophilen Stickstoffatome des Makrocyclus jeweils mit einer geschützten Carbonsäure umgesetzt, welche in  $\alpha$ -Position zur Carboxylgruppe ein Nucleofug trägt. Nach Abspaltung der Schutzgruppen von den Carbonsäurefunktionalitäten wird der Komplex aus paramagnetischem Metallion und Chelatligand durch Zugabe von Metalloxid oder Metallsalz fertiggestellt. Diese Verfahrensvariante ist im folgenden schematisch wiedergegeben, wobei die Reste in den Formeln wie vorstehend definiert sind:

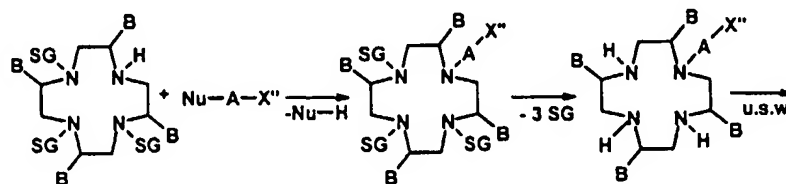


Nu = Nucleofug (z.B. Br, I, O-Triflat, Methylat, Tosylat, etc).

$$Z = \frac{1}{3} \text{Gd}^{3+}$$

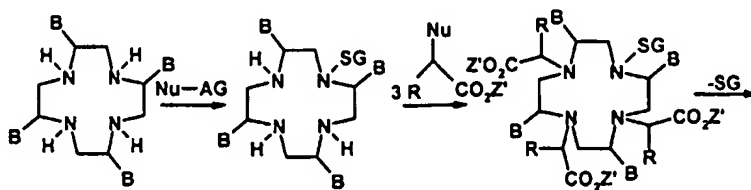
Z' = Schutzgruppe der Carbonsäure

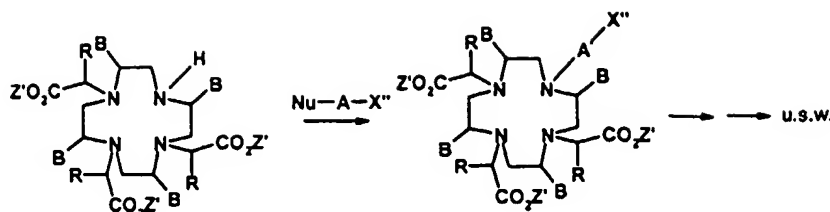
In einer zweiten Variante kommt als Edukt ein Makrocyclus zum Einsatz, welcher an drei der vier Stickstoffatome bereits geeignete Schutzgruppen SG trägt. Als Schutzgruppen eignen sich hier z.B. tert-Butyl-oxy-carbonyl (t-BOC),  $\text{COCF}_3$ , Carbobenzoxy (Cbo) oder Fluorenyl-methoxycarbonyl (Fmoc), etc. Durch die Anwesenheit der Schutzgruppen ist nur noch eines der vier Stickstoffatome nukleophil und kann mit A-X'' reagieren, das seinerseits wie bei der vorstehenden Variante ein Nucleofug Nu trägt. Nach Verknüpfung beider Moleküle unter Austritt der Abgangsgruppe erfolgt eine Abspaltung der drei Schutzgruppen von den Stickstoffatomen. Es schließt sich die Derivatisierung mit Hilfe der Carbonsäurederivate an, wie sie bereits für die vorstehende Variante beschrieben wurde. Diese zweite Verfahrensvariante ist im folgenden schematisch wiedergegeben, wobei die Reste in den Formeln wie oben definiert sind:



SG = Schutzgruppe (z.B. BOC, Cbo,  $\text{COCF}_3$ , Fmoc, etc.)

In der dritten Variante wird zunächst eines der vier Stickstoffatome des Makrocyclus durch eine entsprechende Schutzgruppe SG blockiert. Beispiele für geeignete Schutzgruppen sind Formyl, Benzyl, Boc-trityl, etc. Nun erfolgt die Umsetzung an den drei verbleibenden nukleophilen Stickstoffatomen mit entsprechend geschützten Carbonsäurederivaten, die in  $\alpha$ -Position ein entsprechendes Nucleofug tragen. Anschließend erfolgt die Abspaltung der zunächst am ersten Stickstoffatom eingeführten Schutzgruppe SG und Derivatisierung mit AX'', das seinerseits ebenfalls ein Nucleofug trägt. Diese dritte Verfahrensvariante ist im folgenden schematisch wiedergegeben, wobei die Reste in den Formeln wie oben definiert sind:





Als Nucleofug dienen vorteilhaft die Reste:

Cl, Br, I, O-Triflat, Mesylat und Tosylat.

Die Umsetzung wird im Gemisch von Wasser und organischen Lösungsmitteln wie: Isopropanol, Ethanol, Methanol, Butanol, Dioxan, Tetrahydrofuran, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Formamid oder Dichlormethan durchgeführt. Bevorzugt sind ternäre Gemische aus Wasser, Isopropanol und Dichlormethan.

Die Umsetzung wird in einem Temperaturbereich zwischen -10°C und 100°C, vorzugsweise zwischen 0°C und 30°C durchgeführt.

Der Schutz der vorstehend benannten Gruppen kann auf zahlreichen, dem Fachmann bekannten Möglichkeiten erfolgen. Die nachfolgend beschriebenen Ausführungsformen dienen zur Erläuterung dieser Schutzgruppentechniken ohne auf diese Synthesewege beschränkt zu sein.

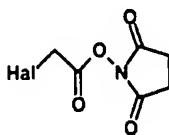
Als Säureschutzgruppen kommen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl- und C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Ar(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-alkylgruppen sowie Trialkylsilylgruppen in Frage. Bevorzugt werden die Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl-, n-Butyl-, i-Butyl- und die tert-Butylgruppe.

Die Abspaltung dieser Säureschutzgruppen erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Verfahren, beispielsweise durch Hydrolyse, Hydrogenolyse, alkalische Verseifung der Ester mit Alkali in wäßrig-alkoholischer Lösung bei Temperaturen von 0 bis 50°C, saure Verseifung mit Mineralsäuren oder im Fall von tert-Butylestern mit Hilfe von Trifluoressigsäure.

Die NH-Gruppen lassen sich in vielfältiger Weise schützen und wieder freilegen. Das N-Trifluoracetylderivat wird durch Kalium- oder Natriumcarbonat in Wasser (H. Newman, J. Org. Chem., 30: 287 (1965), M.A. Schwartz et al., J. Am. Chem. Soc., 95 G12 (1973)) oder

einfach durch Ammoniaklösung gespalten (M. Imazama u. F. Eckstein, J. Org. Chem., 44: 2039 (1979)). Ebenfalls milde zu spalten ist das tert-Butyloxycarbonylderivat: es genügt Rühren mit Trifluoressigsäure (B.F. Lundt et al., J. Org. Chem., 43: 2285 (1978)). Sehr groß ist die Gruppe der hydrogenolytisch oder reduzierend zu spaltenden NH-Schutzgruppen: Die N-Benzylgruppe ist bequem mit Wasserstoff/Pd-C zu spalten (W. H. Hartung u. R. Rimmonoff, Org. Reactions VII, 262 (1953)), was auch für die Tritylgruppe (L. Zervas et al., J. Am. Chem. Soc., 78: 1359 (1956)) und die Benzyloxycarbonylgruppe gilt (M. Bergmann u. L. Zervas Ber. 65: 1192 (1932)).

Die aktivierten Ester der vorstehend beschriebenen Verbindungen werden wie dem Fachmann bekannt hergestellt. Für den Fall von Isothiocyanaten oder  $\alpha$ -Halogenacetaten werden die entsprechenden terminalen Aminvorstufen nach literaturbekannten Methoden mit Thiophosgen oder 2-Halo-Essigsäure-Halogeniden umgesetzt. Auch die Umsetzung mit entsprechend derivatisierten Estern von N-Hydroxysuccinimid wie beispielsweise:



ist möglich (Hal = Halogen).

Allgemein können für diesen Zweck alle üblichen Aktivierungsmethoden für Carbonsäuren verwendet werden, die im Stand der Technik bekannt sind. Das Molekül Nu-A-X" wird bevorzugt zunächst unabhängig synthetisiert. Enthält das Molekül eine Amidgruppe, so wird diese beispielsweise hergestellt, indem eine aktivierte Carbonsäure mit einem Amin umgesetzt wird. Die Aktivierung der Carbonsäure erfolgt nach den üblichen Methoden. Beispiele für geeignete Aktivierungsreagentien sind Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid-hydrochlorid (EDC), Benzotriazol-1-yloxytris(dimethylamino)-phosphoniumhexafluorophosphat (BOP) und O-(Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (HBTU), vorzugsweise DCC. Auch der Zusatz von O-nukleophilen Katalysatoren, wie z.B. N-Hydroxysuccinimid (NHS) oder N-Hydroxybenzotriazol ist möglich.

Handelt es sich bei der Gruppe X um eine Carbonsäurefunktion, so kann diese in geschützter Form (z.B. in Form des Benzylesters) eingesetzt werden, die Abspaltung der Schutzgruppe kann dann hydrogenolytisch erfolgen.

Um diese Carbonsäurefunktion an eine geeignete funktionelle Gruppe eines geeigneten Biomoleküls zu knüpfen, sollte diese im Regelfall zunächst aktiviert werden. Bevorzugt werden dazu aktivierte Ester intermediär erzeugt, welche dann von einer nukleophilen Gruppe des Biomoleküls angegriffen werden. Auf diese Weise entsteht eine kovalente Verknüpfung zwischen dem Biomolekül und der Verbindung der Formel II. Bevorzugte aktivierte Ester sind die Ester des N-Hydroxysuccinimids, die Ester des Paranitrophenols oder die Ester des Pentafluorphenols. Soll die Gruppe X in Form eines Isothiocyanats an das Biomolekül geknüpft werden, so wird bevorzugt zunächst ein terminales Amin verwendet, welches, wenn notwendig, mit einer geeigneten Schutzgruppe versehen sein kann. Geeignete Schutzgruppen sind aus der Peptidchemie bekannt. Nach Abspaltung der Schutzgruppe kann durch Umsetzung des primären terminalen Amins mit Thiophosgen das Isothiocyanat erzeugt werden. An dieses können nukleophile Gruppen des Biomoleküls addiert werden.

In einer Ausführungsform stellt die Gruppe X ein Maleinimid dar, welches z.B. selektiv mit Thiofunktionen des Biomoleküls reagieren kann.

In einer anderen Ausführungsform ist die Gruppe X ein Nukleophil ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{SH}$ ), welches an einer geeigneten Funktionalität des Biomoleküls angreift (aktivierter Ester, Maleinimid, etc.). Zahlreiche mit Maleinimiden funktionalisierte Biomoleküle sind kommerziell erhältlich.

Die Synthese der Konjugate erfolgt in der Regel derart, daß zunächst ein derivatisierter und funktionalisierter Chelatkomplex erzeugt wird, welcher dann an das Biomolekül geknüpft wird. Es ist aber auch möglich, daß im Falle der Verwendung von synthetisch hergestellten Biomolekülen der erfindungsgemäße Chelatkomplex während der Synthese des Biomoleküls in dieses eingebaut wird. Dies kann beispielsweise während der sequentiellen Synthese von Oligopeptiden am Syntheseroboter erfolgen. Falls erforderlich, können dazu die in der Synthese des entsprechenden Biomoleküls üblichen Schutzgruppen in die erfindungsgemäße Verbindung eingeführt werden. Diese werden dann im Zuge der üblichen Syntheseprozeduren am Synthesizer wieder abgespalten.

Unter "Biomolekül" wird vorliegend jedes Molekül verstanden, das entweder natürlich beispielsweise im Körper auftritt oder mit analoger Struktur synthetisch hergestellt wurde. Darüber hinaus werden hierunter solche Moleküle verstanden, die mit einem biologisch, beispielsweise im Körper auftretenden Molekül oder einer dort auftretenden Struktur in

Wechselwirkung treten können, so daß sich beispielsweise die Konjugate an bestimmten, gewünschten Stellen des Körpers anreichern. Unter "Körper" wird vorliegend jeder pflanzliche oder tierische Körper verstanden, wobei tierische und insbesondere menschliche Körper bevorzugt sind.

Biomoleküle sind insbesondere die in Lebewesen auftretenden Moleküle, die als Produkte einer evolutionären Selektion durch geordnetes und komplexes Zusammenwirken spezifische Aufgaben für den Organismus erfüllen und die Grundlage seiner Lebensfunktionen (Stoff- und Formwechsel, Fortpflanzung, Energiehaushalt) ausmachen. In Biomolekülen sind zumeist aus einfachen Bausteinen (Aminosäuren, Nucleobasen, Monosacchariden, Fettsäuren, etc.) größere Moleküle (Proteine, Nucleinsäuren, Polysaccharide, Lipide, etc.) aufgebaut. Entsprechende Makromoleküle werden auch als Biopolymere bezeichnet.

Vorteilhaft kann das Biomolekül beispielsweise ein Polypeptidgerüst aus Aminosäuren mit Seitenketten aufweisen, die mit der reaktiven Gruppe X der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel II eine Reaktion eingehen können. Solche Seitenketten schließen beispielsweise die Carboxylgruppen von Asparaginsäure- und Glutaminsäureresten, die Aminogruppen von Lysinresten, die aromatischen Gruppen von Tyrosin- und Histidinresten und die Sulphydrylgruppen von Cysteinresten ein.

Eine Übersicht über Biomoleküle mit zahlreichen Beispielen findet sich in dem Skriptum "Chemie der Biomoleküle" der TU-Graz (H. Berthold et al., Institut für Organische Chemie, TU-Graz, 2001), das auch über das Internet unter [www.orgc.tu-graz.ac.at](http://www.orgc.tu-graz.ac.at) eingesehen werden kann. Der Inhalt dieses Dokuments wird durch Bezugnahme in die vorliegende Beschreibung aufgenommen.

Zur Bildung der erfindungsgemäßen Konjugate sind folgende Biomoleküle besonders geeignet:

Biopolymere, Proteine, wie Proteine, die eine biologische Funktion haben, HSA, BSA, etc., Proteine und Peptide, die sich an bestimmten Stellen im Organismus anreichern (z.B. an Rezeptoren, Zellmembranen, Kanälen etc.), durch Proteasen spaltbare Peptide, Peptide mit synthetischen Sollbruchstellen (z.B. labile Ester, Amide etc.), Peptide, die durch Metalloproteasen gespalten werden, Peptide mit photospaltbaren Linkern, Peptide mit oxydativen Mitteln (Oxydasen) spaltbaren Gruppen, Peptide mit natürlichen und



unnatürlichen Aminosäuren, Glycoproteine (Glycopeptide), Signal-Proteine, antivirale Proteine und Apoptosis, synthetisch modifizierte Biopolymere, wie mit Linkern derivatisierte Biopolymere, modifizierte Metalloproteasen und derivatisierte Oxydase etc., Kohlenhydrate (Mono- bis Polysaccharide), wie derivatisierte Zucker, im Organismus spaltbare Zucker, Cyclodextrine und dessen Derivate, Aminosucker, Chitosan, Polysulfate und Acetylneuraminsäure-Derivate, Antikörper, wie monoklonale Antikörper, Antikörperfragmente, polyklonale Antikörper, Minibodies, Single Chains (auch solche, die mit Linkern zu mehrfachen Fragmenten verknüpft sind), rote Blutkörperchen und andere Blutbestandteile, Cancermarker (z.B. CAA) und Zell-Adhäsions-Stoffe (z.B. Lewis X und Anti-Lewis X-Derivate), DNA und RNA Fragmente, wie derivatisierte DNAs und RNAs (z.B. solche, die durch das SELEX-Verfahren gefunden wurden), synthetische RNA und DNA (auch mit unnatürlichen Basen), PNAs (Hoechst) und Antisense,  $\beta$ -Aminosäuren (Seebach), Vektoramine zur Einschleusung in die Zelle, biogene Amine, Pharmazeutika, onkologische Präparate, synthetische Polymere, die auf ein biologisches Target (z.B. Rezeptor) gerichtet sind, Steroide (natürliche und modifizierte), Prostaglandine, Taxol und dessen Derivate, Endotheline, Alkaloide, Folsäure und deren Derivate, bioaktive Lipide, Fette, Fettsäureester, synthetisch modifizierte Mono-, Di- und Triglyceride, Liposome, die an der Oberfläche derivatisiert sind, Micellen aus natürlichen Fettsäuren oder aus Perfluoralkyl-Verbindungen, Porphyrine, Texaphrine, erweiterte Porphyrine, Cytochrome, Inhibitoren, Neuramidase, Neuropeptide, Immunomodulatoren, wie FK 506, CAPE und Gliotoxin, Endoglycosidasen, Substrate, die durch Enzyme aktiviert werden wie Calmodulin Kinase, Casein-Kinase II, Glutathion-S-Transferase, Heparinase, Matrix-Metalloproteasen,  $\beta$ -Insulin-Rezeptor-Kinase, UDP-Galactose 4-Epimerase, Fucosidasen, G-Proteine, Galactosidasen, Glycosidasen, Glycosyltransferasen und Xylosidase, Antibiotika, Vitamin und Vitamin-Analoga, Hormone, DNA-Interkalatoren, Nucleoside, Nucleotide, Lektine, Vitamin B12, Lewis-X und Verwandte, Psoralene, Dientrienantibiotika, Carbacycline, VEGF (vascular endothelial growth factor), Somatostatin und dessen Derivate, Biotin-Derivate, Antihormone, tumorspezifische Proteine und Synthetika, Polymere, die sich in sauren oder basischen Bereichen des Körpers anreichern (pH-gesteuerte Verteilung), Myoglobine, Apomyoglobine etc., Neurotransmitter-Peptide, Tumornecrosefaktoren, Peptide, die sich in entzündetem Gewebe anreichern, Bloodpool-Reagenzien, Anionen und Kationen-Transporterproteine, Polyester (z.B. der Milchsäure), Polyamide und Polyphosphate.

Die meisten der vorgenannten Biomoleküle sind kommerziell beispielsweise bei Merck, Alderich, Sigma, Calbochem oder Bachem erhältlich.

Außerdem können als Biomoleküle alle in der WO 96/23526 und der WO 01/08712 offenbarten "Plasmaproteinbindungsgruppen" bzw. "Zielbindungsgruppen" eingesetzt werden. Der Inhalt dieser beiden Offenlegungsschriften wird daher durch Bezugnahme in die vorliegende Beschreibung aufgenommen.

Die Anzahl der Verbindungen der Formel II pro Biomolekül ist prinzipiell beliebig, bevorzugt ist jedoch ein molekulares Verhältnis 0,1:1 bis 10:1, insbesondere von 0,5:1 bis 7:1.

Ferner eignen sich die Verbindungen der Formel II zur Konjugation an all diejenigen Moleküle, welche im Stand der Technik mit Fluoreszenzfarbstoffen umgesetzt werden, um beispielsweise ihre Lokalisation durch Epifluoreszenzmikroskopie innerhalb der Zelle zu bestimmen. Auch können die Verbindungen mit prinzipiell beliebigen Medikamenten konjugiert werden, um dann nach Verabreichung des Medikaments den Transport innerhalb des Organismus durch die NMR-Technik zu verfolgen. Ferner ist es möglich, daß die erfindungsgemäßen Konjugate aus den Verbindungen der Formel II und den Biomolekülen weitere zusätzliche Moleküle enthalten, die an die Biomoleküle konjugiert worden sind. Mit dem Begriff "Biomolekül" im Sinne der Erfindung sind also alle Moleküle umfaßt, die in biologischen Systemen vorkommen und alle Moleküle, die biokompatibel sind.

Durch die nachfolgenden Beispiele wird die vorliegende Erfindung näher erläutert, ohne sie darauf einzuschränken.

### **Beispiele**

#### **Beispiel 1**

a) 10-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris-(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 25 g (81,1 mmol) 2-Brompropionylglycin-benzylester (Beispiel 1e der WO 98/24774) und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne

ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (19,6 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 32,0 g (73 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 68,39 H 7,23 N 7,98

gef.: C 67,95 H 7,41 N 8,22

b) 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

26,3 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 1a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 15,7 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 51,05 H 7,60 N 13,53

gef.: C 50,71 H 7,83 N 13,25

c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

10,4 g (20 mmol) des in Beispiel 1b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 10,1 g (69 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,3 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 39,33 H 5,40 Gd 23,41 N 10,42

gef.: C 39,21 H 5,88 Gd 22,93 N 10,11

## Beispiel 2

a) 10-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

19,6 g (50 mmol) des in Beispiel 1a als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 68,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethylsulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 33,7 g (70 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 69,90 H 7,86 ; N 7,28

gef.: C 69,77 H 7,51 N 7,22

b) 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ,"-tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

28,9 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 2a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 18,0 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 55,89 H 8,54 N 11,64

gef.: C 55,63 H 8,83 N 11,31

c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ,"-tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

12,0 g (20 mmol) des in Beispiel 2b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 12,0 g (72 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 9,1 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 44,49 H 6,40 Gd 20,80 N 9,26

gef.: C 44,21 H 6,72 Gd 20,23 N 9,11

### Beispiel 3

a) 10-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ,"-tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

19,6 g (50 mmol) des in Beispiel 1a als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[4-(Benzyloxy-carbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 76,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 41,1 g (76 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 72,13 H 8,10 N 6,47

gef.: C 71,88 H 8,21 N 6,25

b) 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

32,5 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 3a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 22,0 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 61,56 H 8,80 N 9,70

gef.: C 61,17 H 8,98 N 9,41

c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

14,4 g (20 mmol) des in Beispiel 3b beschriebenen Liganden werden in 150 mL Wasser und 150 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 8 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 12,4 g (65 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 50,72    H 6,90    Gd 17,95    N 7,99

gef.: C 51,03    H 7,08    Gd 17,42    N 8,11

#### Beispiel 4

a) 10-[4-(t-Butoxycarbonyl)-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris-(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 26,6 g (81,1 mmol) N-[2-Brom-2-phenylacetyl]-glycin-t-butylester (Beispiel 6a der WO 98/24775) und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[4-(t-Butoxycarbonyl)-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (21,0 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel:

Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 34,0 g (75 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 68,93    H 7,45    N 7,73

gef.: C 69,12    H 7,57    N 7,60

b) 10-(4-(*t*-Butoxycarbonyl-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-trimethyl-1,4,7-tris(carb-oxy-methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

27,2 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 4a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 17,5 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 55,95    H 7,13    N 12,08

gef.: C 56,21    H 6,99    N 11,83

c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

11,6 g (20 mmol) des in Beispiel 4b beschriebenen *t*-Butylesters werden in sehr wenig Trifluoressigsäure gelöst und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 250 mL Diethylether wird 2 Stunden nachgerührt, der Niederschlag abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Der so erhaltene freie Ligand wird in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst, mit verdünntem Ammoniak auf pH 7 eingestellt und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und



über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,6 g (72 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 9,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 44,19    H 5,22    Gd 21,43    N 9,54

gef.: C 43,91    H 5,27    Gd 21,09    N 9,77

### Beispiel 5

#### a) 4-(Ethoxycarbonylmethoxy)-phenylelessigsäuremethylester

10 g (60,2 mmol) Hydroxyphenylelessigsäuremethylester (Aldrich) werden in 75 mL Aceton gelöst. Es werden 18,4 g (133 mmol) festes Kaliumcarbonat zugegeben, 17,8 mL (123 mmol) Bromessigsäureethylester innerhalb 15 min unter Rückfluß zugetropft, weitere 4 Stunden bei dieser Temperatur gehalten und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Es wird vom Niederschlag abfiltriert, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert (Hexan/Essigester 3:1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 14,6 g (96 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 61,90    H 6,39

gef.: C 61,67    H 6,50

#### b) $\alpha$ -Brom-4-(ethoxycarbonylmethoxy)-phenylelessigsäuremethylester

13,5 g (53,5 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 5a werden in 75 mL Tetrachlorkohlensstoff gelöst. Es werden 9,52 g (53,5 mmol) N-Bromsuccinimid und 48 mg Dibenzoylperoxid zugegeben, 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wird zweimal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit Wasser gewaschen, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet, vom Trocknungsmittel abfiltriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an

Kieselgel chromatographiert (Hexan/Essigester 3:1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 15,4 g (87 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 47,15 H 4,57 Br 24,13

gef.: C 47,01 H 4,76 Br 23,70

- c) 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylmethoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 26,9 g (81,1 mmol) der im vorstehenden Beispiel 5b beschriebenen Bromverbindung und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Triethylamin = 10/5/0,1). Das so erhaltene 1-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylmethoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (21,1 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 34,1 g (75 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 67,38 H 7,10 N 6,16

gef.: C 67,20 H 7,33 N 6,31

d) 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylmethoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

27,3 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 5c werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 19,3 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 56,42 H 7,26 N 8,77

gef.: C 56,21 H 7,56 N 8,47

e) Gd-Komplex des 10-[ $\alpha$ -(4-Carboxymethoxyphenyl)-carboxymethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

13,3 g (20 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 5d werden in 250 mL 2N Natronlauge und 250 mL Tetrahydrofuran aufgenommen und 5 Tage bei 40 °C gerührt. Anschließend wird die wäßrige Phase mit Amberlite IR-120® (H<sup>+</sup>-Form) auf pH 7 gestellt, es werden 80 mL Isopropanol zugefügt und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 8,6 g (61 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 9,3 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 43,19 H 4,97 Gd 20,94 N 7,46

gef.: C 43,22 H 5,29 Gd 20,42 N 7,11

**Beispiel 6****a) 4-(Ethoxycarbonylpropoxy)-phenylelessigsäuremethylester**

10 g (60,2 mmol) Hydroxyphenylelessigsäuremethylester (Aldrich) werden in 75 mL Aceton gelöst. Es werden 18,4 g (133 mmol) festes Kaliumcarbonat zugegeben, 17,8 mL (123 mmol) 4-Brombuttersäureethylester innerhalb 15 min unter Rückfluß zugetropft, weitere 4 Stunden bei dieser Temperatur gehalten und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Es wird vom Niederschlag abfiltriert, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert (Hexan/Essigester 3:1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 16,4 g (97 % d. Th.)

**Elementaranalyse:**

ber.: C 64,27 H 7,19

gef.: C 64,41 H 6,92

**b)  $\alpha$ -Brom-[4-(ethoxycarbonylpropoxy)-phenyl]-essigsäuremethylester**

15,0 g (53,5 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 6a werden in 75 mL Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Es werden 9,52 g (53,5 mmol) N-Bromsuccinimid und 48 mg Dibenzoylperoxid zugegeben, 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wird zweimal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit Wasser gewaschen, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet, vom Trocknungsmittel abfiltriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Hexan/Essigester 3:1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 15,9 g (83 % d. Th.)

**Elementaranalyse:**

ber.: C 50,16 H 5,33 Br 22,24

gef.: C 50,33 H 5,04 Br 21,94

- c) 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylpropoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 29,1 g (81,1 mmol) der im vorstehenden Beispiel 6b beschriebenen Bromverbindung und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Triethylamin = 10/5/0,1). Das so erhaltene 1-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylpropoxy)phenyl)methoxycarbonylmethyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (22,5 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 30,5 g (65 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 67,93 H 7,31 N 5,98

gef.: C 67,95 H 7,22 N 6,13

- d) 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylpropoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

28,1 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 6c werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 20,0 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 57,64 H 7,56 N 8,40

gef.: C 57,43 H 7,77 N 8,69

- e) Gd-Komplex des 10-[ $\alpha$ -(4-Carboxypropoxyphenyl)-carboxymethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

13,3 g (20 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 6d werden in 250 mL 2N Natronlauge und 250 mL Tetrahydrofuran aufgenommen und 5 Tage bei 40 °C gerührt. Anschließend wird die wäßrige Phase mit Amberlite IR-120® (H<sup>+</sup>-Form) auf pH 7 gestellt, es werden 80 mL Isopropanol zugefügt und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet. Ausbeute: 9,3 g (55 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,0 %

## Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 44,72 H 5,31 Gd 20,19 N 7,19

gef.: C 44,31 H 5,88 Gd 19,93 N 7,11

**Beispiel 7**

- a) 4-(Ethoxycarbonyldecyloxy)-phenylelessigsäuremethylester

10 g (60,2 mmol) Hydroxyphenylelessigsäuremethylester (Aldrich) werden in 75 mL Aceton gelöst. Es werden 18,4 g (133 mmol) festes Kaliumcarbonat zugegeben, 36,1 g (123 mmol)  $\omega$ -Bromundecansäureethylester in 50 mL Aceton zugetropft, 8 Stunden unter Rückfluß gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Es wird vom Ungeößten abfiltriert, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert

(Hexan/Essigester 3:1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 20,3 g (89 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 69,81 H 9,05

gef.: C 69,50 H 8,91

b)  $\alpha$ -Brom-[4-(ethoxycarbonyldecyloxy)-phenyl]-essigsäuremethylester

20,2 g (53,5 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 7a werden in 75 mL Tetrachlorkohlensstoff gelöst. Es werden 9,52 g (53,5 mmol) N-Bromsuccinimid und 48 mg Dibenzoylperoxid zugegeben, 5 Stunden unter Rückfluß erhitzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wird zweimal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit Wasser gewaschen, die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet, vom Trocknungsmittel abfiltriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Hexan/Essigester 3:1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 21,0 g (86 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 57,77 H 7,27 Br 17,47

gef.: C 57,95 H 7,41 Br 17,02

c) 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonyldecyloxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 37,1 g (81,1 mmol) der im vorstehenden Beispiel 7b beschriebenen Bromverbindung und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Triethylamin = 10/5/0,1). Das so erhaltene 1-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxy-

carbonyldecyloxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (27,4 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 33,6 g (65 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 69,61 H 7,98 N 5,41

gef.: C 69,75 H 7,88 N 5,12

d) 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonyldecyloxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha'$ , $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

31,1 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 7c werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 23,0 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 61,24 H 8,43 N 7,32

gef.: C 60,96 H 8,61 N 7,22

e) Gd-Komplex des 10-[ $\alpha$ -(4-Carboxydecyloxyphenyl)-carboxymethyl]-1,4,7- $\alpha'$ , $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

15,3 g (20 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 7d werden in 250 mL 2N Natronlauge und 250 mL Tetrahydrofuran aufgenommen und 5 Tage bei 40 °C gerührt. Anschließend wird die wäßrige Phase mit Amberlite IR-120® (H<sup>+</sup>-Form) auf pH 7 gestellt, es werden 80



mL Isopropanol zugefügt und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,5 g (60 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 49,30    H 6,32    Gd 17,93    N 6,39

gef.: C 49,56    H 6,10    Gd 17,52    N 6,63

### Beispiel 8

a) 10-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 18,6 g (81,1 mmol) 4-Brommethyl-benzoesäuremethylester (Aldrich) in 150 mL Chloroform und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 8/1). Das so erhaltene 1-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (21,6 g; 67,3 mmol; 83 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 41,8 g (77 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 69,95 H 7,24 N 6,94

gef.: C 69,57 H 7,39 N 7,12

b) 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

24,2 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 8a werden in 400 mL Methanol gelöst, mit 100 mL 15 N Natronlauge versetzt, 6 Stunden unter Rückfluß gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eindampfen im Vakuum wird der Rückstand in 200 mL Wasser gelöst und durch Zugabe von IR-120®-Kationenaustauscher (H<sup>+</sup>-Form) auf pH 7 gestellt. Es wird vom Austauscher abfiltriert im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird ohne weitere Charakterisierung komplexiert.

Dünnschicht-System: n-Butanol/aqu. Ammoniak/Ethanol/Wasser 12/6/3/3

Ausbeute: 16 g

c) Gd-Komplex des 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

11 g (20 mmol) des in Beispiel 8b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 8,9 g (61 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,2 %

## Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 44,37 H 5,21 Gd 23,23 N 8,28

gef.: C 44,12 H 5,46 Gd 22,93 N 8,51

**Beispiel 9****a) 10-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan**

21,6 g (67,3 mmol) des in Beispiel 8a als Zwischenprodukt beschriebenen 1-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 85,1 g (0,25 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 48,5 g (81 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

**Elementaranalyse:**

ber.:	C 71,43	H 7,92	N 6,29
gef.:	C 71,12	H 7,79	N 6,55

**b) 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan**

26,7 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 9a werden in 400 mL Methanol gelöst, mit 100 mL 15 N Natronlauge versetzt, 6 Stunden unter Rückfluß gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eindampfen im Vakuum wird der Rückstand in 200 mL Wasser gelöst und durch Zugabe von IR-120®-Kationenaustauscher ( $H^+$ -Form) auf pH 7 gestellt. Es wird vom Austauscher abfiltriert im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird ohne weitere Charakterisierung komplexiert.

Dünnschicht-System: n-Butanol/aqu. Ammoniak/Ethanol/Wasser 12/6/3/3

Ausbeute: 19 g

c) Gd-Komplex des 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

12,6 g (20 mmol) des in Beispiel 9b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule ( $H^+$ -Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 10,9 g (65 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 9,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 48,93    H 6,23    Gd 20,66    N 7,36

gef.: C 48,87    H 6,01    Gd 20,22    N 7,59

### Beispiel 10

a) 10-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

21,6 g (67,3 mmol) des in Beispiel 8a als Zwischenprodukt beschriebenen 1-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyldiisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 95,1 g (0,25 mol) 2-(Trifluormethylsulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 48,3 g (71 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 73,63 H 8,17 N 5,54

gef.: C 73,42 H 8,39 N 5,75

b) 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

30,3 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 10a werden in 400 mL Methanol gelöst, mit 100 mL 15 N Natronlauge versetzt, 6 Stunden unter Rückfluß gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eindampfen im Vakuum wird der Rückstand in 200 mL Wasser gelöst und durch Zugabe von IR-120®-Kationenaustauscher ( $H^+$ -Form) auf pH 7 gestellt. Es wird vom Austauscher abfiltriert im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird ohne weitere Charakterisierung komplexiert.

Dünnschicht-System: n-Butanol/aqu. Ammoniak/Ethanol/Wasser 12/6/3/3

Ausbeute: 22,5 g

c) Gd-Komplex des 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

15,0 g (20 mmol) des in Beispiel 10b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 11,9 g (63 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,0 %

## Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 54,52 H 6,75 Gd 17,85 N 6,36

gef.: C 54,19 H 6,83 Gd 17,61 N 6,69

**Beispiel 11**

a) 10-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -triphenyl-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

21,6 g (67,3 mmol) des in Beispiel 8a als Zwischenprodukt beschriebenen 1-(p-Methoxycarbonylbenzyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 93,6 g (0,25 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-phenyllessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 50,8 g (76 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 74,98    H 6,49    N 5,64

gef.: C 75,22    H 6,61    N 5,47

b) 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -triphenyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

29,8 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 11a werden in 400 mL Methanol gelöst, mit 100 mL 15 N Natronlauge versetzt, 6 Stunden unter Rückfluß gekocht und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Eindampfen im Vakuum wird der Rückstand in 200 mL Wasser gelöst und durch Zugabe von IR-120<sup>®</sup>-Kationenaustauscher ( $H^+$ -Form) auf pH 7 gestellt. Es wird vom Austauscher abfiltriert im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird ohne weitere Charakterisierung komplexiert.

Dünnschicht-System: n-Butanol/aqu. Ammoniak/Ethanol/Wasser 12/6/3/3

Ausbeute: 22,0 g

c) Gd-Komplex des 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -triphenyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

14,6 g (20 mmol) des in Beispiel 11b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 13,1 g (70 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,1 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 55,67 H 4,79 Gd 18,22 N 6,49

gef.: C 55,33 H 4,97 Gd 17,92 N 6,54

## Beispiel 12

a) 10-[4-(t-Butoxycarbonyl)-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -triphenyl-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 27,9 g (162,2 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 26,6 g (81,1 mmol) N-[2-Brom-2-phenylacetyl]-glycin-t-butylester (Beispiel 6a der WO 98/24775) und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[4-(t-Butoxycarbonyl)-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (21,0 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 74,9 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethylsulfonyloxy)-2-phenyl-essigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden

unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 30/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 37,7 g (69 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 73,67 H 6,74 N 6,41

gef.: C 73,44 H 6,43 N 6,79

b) 10-(4-(*t*-Butoxycarbonyl-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-triphenyl-1,4,7-tris(carb-oxy-methyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

32,8 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 12a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 24,8 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 67,22 H 6,74 N 8,52

gef.: C 67,00 H 6,85 N 8,23

c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-triphenyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

16,4 g (20 mmol) des in Beispiel 12b beschriebenen *t*-Butylesters werden in sehr wenig Trifluoressigsäure gelöst und 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 250 mL Diethylether wird 2 Stunden nachgerührt, der Niederschlag abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Der so erhaltene freie Ligand wird in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst, mit verdünntem Ammoniak auf pH 7 eingestellt und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 Stunden am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut



auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 25/15/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120<sup>®</sup>-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,7 g (59 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 54,83 H 4,82 Gd 17,09 N 7,61

gef.: C 54,91 H 4,67 Gd 16,62 N 7,33

### Beispiel 13

a) 10-[4-(Benzyloxycarbonyl)-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzyloxy-carbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 34,4 g (0,2 mol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 23,2 g (81,1 mmol) 2-Bromacetyl-glycin-benzylester (Teger-Nilsson et al., WO 93/11152, Seite 38) und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[4-(Benzyloxycarbonyl)-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (19,6 g; 50 mmol; 62 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 68,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 37,0 g (78 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 69,67 H 7,76 N 7,39

gef.: C 69,51 H 7,88 N 7,39

b) 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

28,4 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 13a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 17,7 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 55,18 H 8,40 N 11,92

gef.: C 54,97 H 8,70 N 11,88

c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ ''-tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

11,8 g (20 mmol) des in Beispiel 13b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 12,1 g (75 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,0 %

## Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 43,71 H 6,25 Gd 21,19 N 9,44

gef.: C 43,90 H 6,40 Gd 20,80 N 9,33

**Beispiel 14****a) 10-[4-(Benzyloxycarbonyl)-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris-(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan**

18,9 g (50 mmol) des in Beispiel 13a als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[4-(Benzyloxycarbonyl)-2-oxo-3-azabutyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 76,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 38,5 g (72 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

**Elementaranalyse:**

ber.: C 71,95 H 8,02 N 6,56

gef.: C 71,90 H 8,21 N 6,73

**b) 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan**

32,1 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 14a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 21,2 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

**Elementaranalyse:**

ber.: C 61,08 H 8,69 N 9,89

gef.: C 61,27 H 8,55 N 9,41

- c) Gd-Komplex des 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

14,2 g (20 mmol) des in Beispiel 14b beschriebenen Liganden werden in 150 mL Wasser und 150 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 8 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 13,5 g (71 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 9,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 50,15    H 6,78    Gd 18,24    N 8,12

gef.: C 49,92    H 6,51    Gd 18,01    N 8,31

### Beispiel 15

- a) 10-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-2,5,8,11-tetramethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triessigsäure-tri-t-butylester, Natriumbromid-Komplex

Zu 1,14 g (5 mmol) 2,5,8,11-Tetramethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (Petrov et al., DE 19608307; Ranganathan et al., WO 95/31444), gelöst in 10 mL Chloroform, gibt man 0,50 g (1,67 mmol) 2-Brompropionylglycin-benzylester (Beispiel 1e der WO 98/24774) und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Zu dem so erhaltenen 1-[4-(Benzyloxycarbonyl)-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl]-2,5,8,11-Tetramethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (0,70 g; 1,27 mmol; 76 % d. Th.) und 541 mg (5,1 mmol) Natriumcarbonat in 5 mL Acetonitril gibt man 822 mg (4,2 mmol)

Bromessigsäure-tert.-butylester und rührt 12 Stunden bei 60°C. Man kühlt auf 0°C und filtriert von den Salzen ab. Das Filtrat wird zur Trockne eingedampft und der Rückstand an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Methylenchlorid/Methanol= 20:1).

Ausbeute: 964 mg (85 % d. Th.) eines farblosen Feststoffes

Elementaranalyse:

ber.:	C 56,49	H 8,01	N 7,84	Na 2,57	Br 8,95
gef.:	C 56,37	H 7,88	N 7,61	Na 2,33	Br 8,59

- b) 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-2,5,8,11-tetramethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triessigsäure-tri-tert-butylester (Natriumbromid-Komplex)

893 mg (1,0 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 15a löst man in 10 mL Isopropanol und gibt eine Spatelspitze Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) zu. Man hydriert über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird aus Dioxan umkristallisiert.

Ausbeute: 562 mg (70 % d. Th.) eines kristallinen Feststoffes

Elementaranalyse:

ber.:	C 52,36	H 8,16	N 8,72	Na 2,86	Br 9,95
gef.:	C 52,51	H 8,30	N 8,93	Na 2,71	Br 9,44

- c) Gadolinium-Komplex der 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-2,5,8,11-tetramethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triessigsäure

803 mg (1,0 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 15b werden in 5 mL Trifluoressigsäure gelöst und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man dampft zur Trockne ein, nimmt den Rückstand in 300 mL Wasser auf und gibt die Lösung auf eine Säule, gefüllt mit Reillex® 425 PVP. Man eluiert mit Wasser. Die produkthaltigen Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft (446 mg; 0,84 mmol) und erneut in 4 mL Wasser gelöst. Man gibt 152 mg (0,42 mmol) Gadoliniumoxid zu und erwärmt 3 h auf 90°C. Man dampft zur Trockne ein (Vakuum) und kristallisiert den Rückstand aus 90 % aqu. Ethanol um. Die Kristalle werden abgesaugt, einmal mit Ethanol, dann mit Aceton und zum Schluß mit Dimethylether gewaschen und im Vakuumofen bei 130°C getrocknet (24 Stunden).

Ausbeute: 469 mg (65 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Wassergehalt: 5 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 40,28	H 5,58	N 10,21	Gd 22,93
gef.:	C 40,06	H 5,75	N 10,43	Gd 22,40

### Beispiel 16

Gd-Komplex des 10-[8-(N-Maleimido)-1-methyl-2,5-dioxo-3,6-diazaoctyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris-(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

2,27 g (3 mmol) der in Beispiel 2 beschriebenen Gd-Komplexsäure werden in 15 mL DMF gelöst, unter Eiskühlung mit 380 mg (3,3 mmol) N-Hydroxysuccinimid und 681 mg (3,3 mmol) Dicyclo-hexylcarbodiimid versetzt und 1 Stunde im Eis voraktiviert. Anschließend wird eine Mischung aus 839 mg (3,3 mmol) N-(2-Aminoethyl)maleimid Trifluoracetatsalz (Arano et al., J. Med. Chem., 1996, 39, 3458) und 0,7 mL (4 mmol) N,N-Diisopropylethylamin in 10 mL DMF zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird erneut im Eisbad gekühlt, filtriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 1/1).

Ausbeute: 997 mg (35 % d. Th.)

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.:	C 46,51	H 6,20	Gd 17,91	N 11,17
gef.:	C 46,28	H 6,44	Gd 17,31	N 11,26

### Beispiel 17

Gd-Komplex des 10-[8-(N-Maleimido)-1-methyl-2,5-dioxo-3,6-diazaoctyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris-(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

2,63 g (3 mmol) der in Beispiel 3 beschriebenen Gd-komplexsäure werden in 15 mL DMF gelöst, unter Eiskühlung mit 380 mg (3,3 mmol) N-Hydroxysuccinimid und 681 mg (3,3 mmol) Dicyclo-hexylcarbodiimid versetzt und 1 Stunde im Eis voraktiviert. Anschließend wird eine Mischung aus 839 mg (3,3 mmol) N-(2-Aminoethyl)maleimid Trifluoracetatsalz (Arano et al., J. Med. Chem., 1996, 39, 3458) und 0,7 mL (4 mmol) N,N-Diisopropylethylamin in 10 mL DMF zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird erneut im Eisbad gekühlt, filtriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol: 1/1).

Ausbeute: 1,24 g (39 % d. Th.)

Wassergehalt (Karl-Fischer): 6,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 51,74 H 6,66 Gd 15,75 N 9,82

gef.: C 51,77 H 6,41 Gd 15,25 N 10,02

### Beispiel 18

#### a) (3-Brom-2-oxo-pyrrolidin-1-yl)essigsäurebenzylester

67,7 g (0,2 mol) Glycinbenzylester Tosylat und 61,2 ml (0,44 mol) Triethylamin werden in 200 mL Methylenchlorid gelöst und bei 0 °C zu einer Lösung von 52,9 g (0,2 mol) 2,4-Dibrombuttersäurechlorid (Gramain et al. Synth. Commun. (1997), (27), 1827) in 200 ml Methylenchlorid innerhalb 45 min zugetropft und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird nun bei 0 °C zu einer Lösung von 400 ml wässriger 32proz. Natriumhydroxid und 2 g Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat getropft (ca. 15 min) und 30 min gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt, und die wässrige Phase dreimal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert (Methylenchlorid). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 29,3 g (47 % d. Th.)

## Elementaranalyse:

ber.: C 50,02 H 4,52 N 4,49

gef.: C 50,34 H 4,44 N 4,41

b) 10-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ , $\alpha'$ , $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris-(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 28,7 g (165,8 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 20,7 g (66,3 mmol) (3-Brom-2-oxo-pyrrolidin-1-yl)essigsäurebenzylester und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (20,9 g; 51,8 mmol; 78 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 32,7 g (71 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 68,82 H 7,13 N 7,87

gef.: C 68,54 H 7,28 N 8,01

c) 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

26,7 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 18b werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C)



hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 15,8 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 52,16 H 7,42 N 13,22

gef.: C 52,32 H 7,35 N 13,11

d) Gd-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

10,6 g (20 mmol) des in Beispiel 18c beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 9,7 g (67 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,3 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 40,40 H 5,31 Gd 23,00 N 10,24

gef.: C 39,99 H 5,55 Gd 22,93 N 10,45

### Beispiel 19

a) 10-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

20,2 g (50 mmol) des in Beispiel 18b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 68,1 g (0,2

mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 34,1 g (70 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 70,27 H 7,76 N 7,19

gef.: C 70,45 H 7,61 N 7,11

b) 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

29,2 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 19a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 18,4 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 56,75 H 8,38 N 11,41

gef.: C 56,89 H 8,31 N 11,37

c) Gd-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

12,3 g (20 mmol) des in Beispiel 19b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das

Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,9 g (75 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,2 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 45,36 H 6,30 Gd 20,48 N 9,12

gef.: C 45,89 H 6,22 Gd 20,23 N 9,01

In analoger Weise erhält man unter Verwendung von 12,3 g (20 mmol) des in Beispiel 19b beschriebenen Liganden und 3,73 g (10 mmol) Dysprosiumoxid anstelle von Gadoliniumoxid den Dy-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans.

Ausbeute: 11,4 g (71 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 45,05 H 6,26 Dy 21,02 N 9,06

gef.: C 45,35 H 6,22 Dy 20,88 N 9,04

## Beispiel 20

a) 10-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

20,2 g (50 mmol) des in Beispiel 18b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 76,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel:

Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 37,2 g (68 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 72,43 H 8,01 N 6,40

gef.: C 72,55 H 7,98 N 6,35

b) 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

32,8 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 20a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 22,0 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 62,19 H 8,65 N 9,54

gef.: C 62,44 H 8,56 N 9,46

c) Gd-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

14,6 g (20 mmol) des in Beispiel 20b beschriebenen Liganden werden in 150 mL Wasser und 150 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 8 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 12,1 g (65 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 51,39 H 6,81 Gd 17,70 N 7,89

gef.: C 51,64 H 6,77 Gd 17,44 N 7,77

### Beispiel 21

#### a) (3-Brom-2-oxo-pyrrolidin-1-yl)benzoesäurebenzylester

45,5 g (0,2 mol) 4-Aminobenzoesäurebenzylester und 30,6 ml (0,22 mol) Triethylamin werden in 200 mL Methylenchlorid gelöst und bei 0 °C zu einer Lösung von 52,9 g (0,2 mol) 2,4-Dibrombuttersäurechlorid (Gramain et al. Synth. Commun. (1997), (27), 1827) in 200 ml Methylenchlorid innerhalb 45 min zugetropft und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird nun bei 0 °C zu einer Lösung von 400 ml wässriger 32proz. Natriumhydroxid und 2 g Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat getropft (ca. 15 min) und 30 min gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt, und die wäßrige Phase dreimal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert (Methylenchlorid). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 38,2 g (51 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 57,77 H 4,31 N 3,74

gef.: C 57,99 H 4,27 N 3,66

#### b) 10-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(benzoyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 31,2 g (180 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 26,9 g (71,9 mmol) (3-Brom-2-oxo-pyrrolidin-1-yl)benzoesäurebenzylester und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase

ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (26,1 g; 56,1 mmol; 78 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 36,3 g (68 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 70,64 H 6,88 N 7,36

gef.: C 70,89 H 6,81 N 7,29

c) 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

28,6 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 21b werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 17,7 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 56,84 H 6,98 N 11,84

gef.: C 57,04 H 6,91 N 11,79

d) Gd-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

11,8 g (20 mmol) des in Beispiel 21c beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,1 g (71 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 45,09 H 5,13 Gd 21,08 N 9,39

gef.: C 45,45 H 5,11 Gd 20,78 N 9,40

## Beispiel 22

a) 10-[1-(4-Benzyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

23,3 g (50 mmol) des in Beispiel 21b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(4-Benzyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 68,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 35,3 g (68 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 71,86 H 7,49 N 6,76

gef.: C 71,99 H 7,46 N 6,71

- b) 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ , $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

31,1 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 22a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 20,2 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 60,43 H 7,90 N 10,36

gef.: C 60,59 H 7,82 N 10,31

- c) Gd-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ , $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

13,5 g (20 mmol) des in Beispiel 22b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule ( $H^+$ -Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 12,4 g (72 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,8 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 49,20 H 6,07 Gd 18,94 N 8,44

gef.: C 49,51 H 6,04 Gd 18,71 N 8,45

In analoger Weise erhält man unter Verwendung von 13,5 g (20 mmol) des in Beispiel 22b beschriebenen Liganden und 3,73 g (10 mmol) Dysprosiumoxid anstelle von



Gadoliniumoxid den Dy-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

Ausbeute: 13,0 g (75 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 48,89 H 6,03 Dy 19,45 N 8,38

gef.: C 49,11 H 6,04 Dy 19,22 N 8,36

### Beispiel 23

a) 10-[1-(4-Benzyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

23,3 g (50 mmol) des in Beispiel 21b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(4-Benzyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 76,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 41,1 g (71 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 73,74 H 7,76 N 6,06

gef.: C 73,91 H 7,69 N 6,01

b) 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

34,7 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 23a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 23,8 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 64,88 H 8,23 N 8,80

gef.: C 65,04 H 8,19 N 8,70

c) Gd-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-pyrrolidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

15,9 g (20 mmol) des in Beispiel 23b beschriebenen Liganden werden in 150 mL Wasser und 150 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 8 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 12,9 g (65 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,0 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 54,35 H 6,58 Gd 16,55 N 7,37

gef.: C 54,66 H 6,57 Gd 16,32 N 7,32

## Beispiel 24

a) (3-Brom-2-oxo-piperidin-1-yl)essigsäurebenzylester

67,7 g (0,2 mol) Glycinbenzylester Tosylat und 61,2 ml (0,44 mol) Triethylamin werden in 200 mL Methylenchlorid gelöst und bei 0 °C zu einer Lösung von 55,7 g (0,2 mol) 2,5-Dibromvaleriansäurechlorid (Okawara et al. Chem. Pharm. Bull. (1982), (30), 1225) in 200 ml Methylenchlorid innerhalb 45 min zugetropft und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird nun bei 0 °C zu einer Lösung von 400 ml wässriger 32proz. Natriumhydroxid und 2 g Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat getropft (ca. 15 min) und 30 min gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt, und die wäßrige Phase dreimal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert (Methylenchlorid). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 33,2 g (51 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 51,55 H 4,94 N 4,29

gef.: C 51,86 H 4,91 N 4,18

b) 10-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris-(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 30,3 g (175 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 18,9 g (58 mmol) (3-Brom-2-oxo-piperidin-1-yl)essigsäurebenzylester und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (20,3 g; 48,6 mmol; 84 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird

an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 32,5 g (74 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 69,08 H 7,25 N 7,75

gef.: C 69,34 H 7,19 N 7,66

c) 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

27,1 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 24b werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 16,3 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 53,03 H 7,60 N 12,88

gef.: C 53,34 H 7,54 N 12,79

d) Gd-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

10,9 g (20 mmol) des in Beispiel 24c beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 9,6 g (65 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,2 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 41,31 H 5,49 Gd 22,53 N 10,04

gef.: C 41,67 H 5,48 Gd 22,21 N 9,97

### Beispiel 25

a) 10-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

20,9 g (50 mmol) des in Beispiel 24b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 68,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 36,2 g (73 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 70,49 H 7,85 N 7,09

gef.: C 70,61 H 7,83 N 7,01

b) 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

29,6 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 25a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 18,8 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

## Elementaranalyse:

ber.: C 57,40 H 8,51 N 11,16

gef.: C 57,64 H 8,45 N 11,09

- c) Gd-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

12,6 g (20 mmol) des in Beispiel 25b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule ( $H^+$ -Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,7 g (71 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 8,1 %

## Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 46,08 H 6,44 Gd 20,11 N 8,96

gef.: C 46,34 H 6,41 Gd 19,99 N 8,91

In analoger Weise erhält man unter Verwendung von 12,6 g (20 mmol) des in Beispiel 25b beschriebenen Liganden und 3,73 g (10 mmol) Dysprosiumoxid anstelle von Gadoliniumoxid den Dy-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans.

Ausbeute: 10,8 g (66 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,6 %

## Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 45,77 H 6,40 Dy 20,64 N 8,90

gef.: C 46,01 H 6,46 Dy 20,34 N 8,91

**Beispiel 26**

- a) 10-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

20,9 g (50 mmol) des in Beispiel 24b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(Benzyloxycarbonylmethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 76,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 39,8 g (72 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.:	C 72,60	H 8,09	N 6,32
gef.:	C 72,89	H 7,98	N 6,27

- b) 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

33,3 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 26a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 22,4 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.:	C 62,63	H 8,76	N 9,36
gef.:	C 62,77	H 8,71	N 9,29

c) Gd-Komplex des 10-[1-(Carboxymethyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

14,9 g (20 mmol) des in Beispiel 26b beschriebenen Liganden werden in 150 mL Wasser und 150 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 8 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 12,9 g (68 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,6 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 51,92    H 6,93    Gd 17,43    N 7,76

gef.: C 52,09    H 6,88    Gd 17,21    N 7,77

## Beispiel 27

a) (3-Brom-2-oxo-piperidin-1-yl)benzoesäurebenzylester

45,5 g (0,2 mol) 4-Aminobenzoesäurebenzylester und 30,6 ml (0,22 mol) Triethylamin werden in 200 mL Methylenchlorid gelöst und bei 0 °C zu einer Lösung von 55,3 g (0,2 mol) 2,5-Dibromvaleriansäurechlorid (Okawara et al. Chem. Pharm. Bull. (1982), (30), 1225) in 200 ml Methylenchlorid innerhalb 45 min zugetropft und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wird nun bei 0 °C zu einer Lösung von 400 ml wässriger 32proz. Natriumhydroxid und 2 g Tetrabutylammoniumhydrogencarbonat getropft (ca. 15 min) und 30 min gerührt. Anschließend werden die Phasen getrennt, und die wäßrige Phase dreimal mit je 200 ml Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, die Lösung zur Trockne eingedampft und an Kieselgel chromatographiert



(Methylenchlorid). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 38,8 g (50 % d. Th.)

Elementaranalyse:

ber.: C 58,78 H 4,67 N 3,61

gef.: C 59,01 H 4,50 N 3,59

b) 10-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris-(benzyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

Zu 31,2 g (180 mmol) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, gelöst in 300 mL Chloroform, gibt man 26,6 g (68,5 mmol) (3-Brom-2-oxo-piperidin-1-yl)benzoesäurebenzylester und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Man gibt 250 mL Wasser zu, trennt die organische Phase ab und wäscht sie noch jeweils zweimal mit 200 mL Wasser. Man trocknet die organische Phase über Magnesiumsulfat und dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Chloroform/Methanol/aqu. 25 % Ammoniak = 10/5/1). Das so erhaltene 1-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (27,6 g; 57,5 mmol; 84 % d. Th.) und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 62,45 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)propansäurebenzylester (Kitazaki et al., Chem. Pharm. Bull. (1999), 47(3), 360) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 39,4 g (71 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 70,86 H 6,99 N 7,25

gef.: C 71,11 H 6,81 N 7,17

c) 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

29,0 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 27b werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 18,1 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 57,51 H 7,16 N 11,56

gef.: C 57,72 H 7,11 N 11,50

d) Gd-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

12,1 g (20 mmol) des in Beispiel 27c beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 11,4 g (72 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,1 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 45,84 H 5,31 Gd 20,69 N 9,22

gef.: C 45,99 H 5,26 Gd 20,55 N 9,21

## Beispiel 28

a) 10-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(benzoyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

24,0 g (50 mmol) des in Beispiel 27b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(4-Benzyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 68,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-isovaleriansäurebenzylester (Walker et al., Tetrahedron (1997), 53(43), 14591) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 37,8 g (72 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 72,04    H 7,58    N 6,67  
gef.: C 72,32    H 7,46    N 6,59

b) 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

31,5 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 28a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 20,7 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 60,94    H 8,04    N 10,15  
gef.: C 60,87    H 8,05    N 10,11

c) Gd-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha'$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

13,8 g (20 mmol) des in Beispiel 28b beschriebenen Liganden werden in 200 mL Wasser und 80 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es

werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 3 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexierung wird mit Ammoniak auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und über eine IR-120®-Kationenaustauschersäule (H<sup>+</sup>-Form) gegeben. Das saure Eluat wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 12,0 g (68 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 49,80 H 6,21 Gd 18,63 N 8,30

gef.: C 49,99 H 6,17 Gd 18,51 N 8,21

In analoger Weise erhält man unter Verwendung von 13,8 g (20 mmol) des in Beispiel 28b beschriebenen Liganden und 3,73 g (10 mmol) Dysprosiumoxid anstelle von Gadoliniumoxid den Dy-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans.

Ausbeute: 12,4 g (70 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 49,50 H 6,17 Dy 19,13 N 8,25

gef.: C 49,77 H 6,18 Dy 18,89 N 8,27

## Beispiel 29

a) 10-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(benzoyloxycarbonylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

24,0 g (50 mmol) des in Beispiel 27b als Zwischenprodukt beschriebenen 1-[1-(4-Benzoyloxycarbonylphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecans und 60 mL (0,35 mol) N-Ethyl-diisopropylamin in 200 mL Dichlormethan gibt man zu 76,1 g (0,2 mol) 2-(Trifluormethansulfonyloxy)-2-cyclohexylessigsäurebenzylester (Qabar:et al., Tetrahedron Letters (1998), 39(33), 5895) in 400 mL Dichlormethan und rührt 6 Stunden unter Rückfluß und anschließend über Nacht bei Raumtemperatur. Es wird dreimal mit je 500 mL Wasser

extrahiert, die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol: 20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und eingedampft.

Ausbeute: 40,9 g (70 % d. Th.) eines farblosen kristallinen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 73,88 H 7,84 N 5,98

gef.: C 74,12 H 7,69 N 5,89

b) 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris-(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan

35,1 g (30 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 29a werden in 400 mL Isopropanol gelöst, mit 40 mL Wasser versetzt und 3 g Palladiumkatalysator (10 % Pd/C) hinzugegeben. Man hydriert 8 Stunden bei 50° C. Es wird vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 24,3 g (quantitativ) eines farblosen Pulvers

Elementaranalyse:

ber.: C 65,24 H 8,34 N 8,65

gef.: C 65,48 H 8,22 N 8,60

c) Gd-Komplex des 10-[1-(4-Carboxyphenyl)-2-oxo-piperidin-3-yl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecans

16,2 g (20 mmol) des in Beispiel 29b beschriebenen Liganden werden in 150 mL Wasser und 150 mL Isopropanol gelöst und durch Zugabe von 5 mL Essigsäure angesäuert. Es werden 3,6 g (10 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben und 8 h am Rückfluß erhitzt. Nach beendeter Komplexbildung wird mit Ammoniak erneut auf pH 7,4 eingestellt und an Kieselgel chromatographiert (Laufmittel: Dichlormethan /Methanol /Ammoniak: 20/20/1). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit Ameisensäure aufgenommen und mehrfach unter Zusatz von

Dichlormethan zur Trockne eingedampft und anschließend bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 13,6 g (68 % d. Th.) eines farblosen Pulvers.

Wassergehalt (Karl-Fischer): 7,5 %

Elementaranalyse (bezogen auf die wasserfreie Substanz):

ber.: C 54,81    H 6,69    Gd 16,31    N 7,26

gef.: C 55,11    H 6,57    Gd 16,09    N 7,24

### Beispiele 30-90

Die Beispiele 30-90 beschreiben Konjugate der vorstehend beschriebenen Gadoliniumkomplexe mit Biomolekülen. Die Konjugate wurden nach den folgenden allgemeinen Arbeitsvorschriften I-IV hergestellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Hierin steht "AAV" für allgemeine Arbeitsvorschrift, "ACTH" für adrenocorticotropes Hormon, und "RP-18" bezeichnet eine "reversed phase" stationäre Chromatographiephase. Die Anzahl der Komplexe pro Biomolekül wurde mittels ICP (inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy) bestimmt.

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) I: Albumin-Amid-Konjugate

3 mmol der Gd-komplexsäure werden in 15 mL DMF gelöst, unter Eiskühlung mit 380 mg (3,3 mmol) N-Hydroxysuccinimid und 681 mg Dicyclohexylcarbodiimid versetzt und 1 Stunde im Eis voraktiviert. Die Aktivestermischung wird innerhalb von 30 Minuten in eine Lösung von 16,75 g (0,25 mmol) Rinderserumalbumin (BSA) in 150 mL Phosphatpuffer (pH 7,4) eingetropft und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Ansatzlösung wird filtriert, das Filtrat über eine AMICON® YM30 (cut off 30.000 Da) ultrafiltriert, das Retentat über eine Sephadex® G50 -Säule chromatographiert und die Produktfraktionen gefriergetrocknet.

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) II: Albumin-Maleimid-Konjugate

0,0438 mmol des Gd-komplexmaleimids in 1 mL DMF werden zu 0,84 g (0,0125 mmol) Rinderserumalbumin (BSA), gelöst in 15 mL Phosphatpuffer (pH 7,4), gegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Ansatzlösung wird filtriert, das Filtrat über eine

AMICON® YM30 (cut off 30.000 Da) ultrafiltriert, das Retentat über eine Sephadex® G50 - Säule chromatographiert und die Produktfraktionen gefriergetrocknet.

#### **Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) III: Herstellung von Amid-Konjugaten**

3 mmol der Gd-komplexsäure werden in 15 mL DMF gelöst, unter Eiskühlung mit 380 mg (3,3 mmol) N-Hydroxysuccinimid und 681 mg Dicyclohexylcarbodiimid versetzt und 1 Stunde im Eis voraktiviert. Die Aktivestermischung wird in eine Lösung von 2,5 mmol Aminkomponente in 15-150 mL DMF eingetropft und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Die Ansatzlösung wird filtriert und an Kieselgel chromatographiert.

#### **Allgemeine Arbeitsvorschrift (AAV) IV: Herstellung von Maleimido-SH-Konjugaten**

3 mmol des Gd-komplexmaleimids in 15 mL DMF werden zu 2,5 mmol SH-Komponente in 15-150 mL DMF eingetropft und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Die Ansatzlösung wird an Kieselgel chromatographiert.

Tabelle 1

Beispiel	Edukt Gd-Komplex (Beispiel Nr.)	konjugiert mit	(Herkunft)	AAV	Anzahl Komplexe pro Biomolekül (ICP)	Bemerkungen	Ausbeute (%)
30	1	BSA	Sigma	I	3,7	-	quant.
31	2	BSA	Sigma	I	6,1	-	quant.
32	3	BSA	Sigma	I	2,9	-	quant.
33	4	BSA	Sigma	I	3,5	-	quant.
34	5	BSA	Sigma	I	4,2	-	quant.
35	6	BSA	Sigma	I	6,5	-	quant.
36	7	BSA	Sigma	I	5,0	-	quant.
37	16	BSA	Sigma	II	0,71	-	quant.
38	17	BSA	Sigma	II	0,55	-	quant.
39	8	BSA	Sigma	I	3,0	-	quant.
40	9	BSA	Sigma	I	4,7	-	quant.
41	10	BSA	Sigma	I	5,1	-	quant.
42	11	BSA	Sigma	I	2,7	-	quant.
43	12	BSA	Sigma	I	4,0	-	quant.
44	13	BSA	Sigma	I	3,3	-	quant.
45	14	BSA	Sigma	I	5,8	-	quant.
46	15	BSA	Sigma	I	4,6	-	quant.



Fortsetzung Tabelle 1

47	18	BSA	Sigma	I	3,7	-	quant.
48	19	BSA	Sigma	I	4,1	-	quant.
49	20	BSA	Sigma	I	2,8	-	quant.
50	21	BSA	Sigma	I	3,5	-	quant.
51	22	BSA	Sigma	I	3,3	-	quant.
52	23	BSA	Sigma	I	2,9	-	quant.
53	24	BSA	Sigma	I	4,0	-	quant.
54	25	BSA	Sigma	I	3,5	-	quant.
55	26	BSA	Sigma	I	3,0	-	quant.
56	27	BSA	Sigma	I	3,9	-	quant.
57	28	BSA	Sigma	I	3,1	-	quant.
58	29	BSA	Sigma	I	3,4	-	quant.
59	11	(D-Lys16)-ACTH (1-24 human)	BACHEM	I	2,0	-	quant.
60	12	ACTH (1-17)	BACHEM	I	1,7	-	quant.
61	14	H- $\beta$ -Ala-Phe	BACHEM	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	95
62	8	Anti-Inflammatory Peptide 2	BACHEM	I	1,0	-	quant.
63	9	L-Carnosin	BACHEM	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	97
64	16	Homoglutathion	BACHEM	IV	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	94

Fortsetzung Tabelle 1

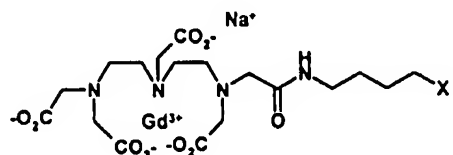
65	17	Guanyl-Cys-OH	BACHEM	IV	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	93
66	8	H-DL-d-Hydroxy-DL-Lys-OH	BACHEM	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	85
67	7	H- $\beta$ -Ala-Lys-OH	BACHEM	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	87
68	16	H-Arg-Gly-Asp-Cys-OH	BACHEM	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	91
69	9	H-Asp-Leu-Trp-Gln-Lys-OH	BACHEM	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	94
70	12	H-Ala-His-Lys-OH	BACHEM	III	2,0	wurde an RP-18 gereinigt	91
71	13	Endothelin-2 (Human)	BACHEM	I	0,87	-	quant.
72	14	Human Serumalbumin	BACHEM	I	5,1	-	quant.
73	7	Human Serumalbumin	BACHEM	I	3,1	-	quant.
74	8	Human Serumalbumin	BACHEM	I	2,3	-	quant.
75	17	Thioguanosin	Aldrich	IV	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	96
76	5	6-Aminopenicillinsäure	Aldrich	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	92
77	11	4-Aminopteroylglutaminsäure	Aldrich	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	65
78	4	2-Amino-purinthiol	Aldrich	IV	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	94

Fortsetzung Tabelle 1

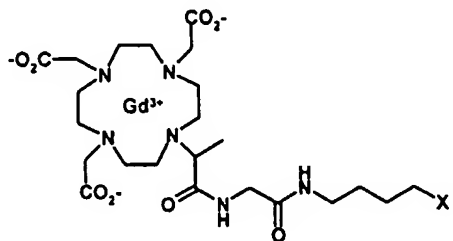
79	12	5-Azacytidin	Aldrich	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	96
80	17	4,5-Diamino-2,6- dimercaptopyrimidin	Aldrich	IV	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	71
81	13	Mitomycin C	Aldrich	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	81
82	12	Muraminsäure	Aldrich	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	92
83	6	Puromycin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	90
84	11	Doxorubicin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	89
85	12	Spectinomycin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	88
86	4	Streptomycin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	62
87	14	Neomycin B	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	52
88	8	Nystatin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	72
89	3	Hygromycin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	71
90	2	Ampicillin	SIGMA	III	1,0	wurde an RP-18 gereinigt	42

**Beispiel 91**

In diesem Beispiel wurden die Relaxivitäten der Konjugate aus den Beispielen 30-38 mit den Relaxivitäten von zwei Vergleichssubstanzen verglichen. Als Vergleichssubstanzen wurden Gd-DTPA (1) mit der Formel:



und Gd-GlyMeDOTA (2) mit der Formel:



die jeweils mit Rinderserumalbumin (BSA) umgesetzt waren, eingesetzt.

Die Messungen erfolgten jeweils in wäßriger Lösung und in Plasma bei +37°C und einer Frequenz von 20 MHz. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 2 zusammengefaßt, wobei die angegebenen Relaxivitäten pro Mol Gadolinium aus den Meßwerten berechnet wurden:

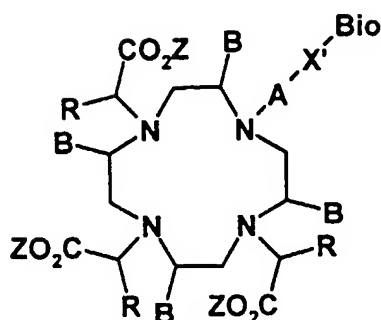
Tabelle 2

Beispiel	Gd-Komplex (aus Beispiel)	Anzahl Gd/BSA	R <sub>1</sub> (H <sub>2</sub> O) (L/mmol.s)	R <sub>1</sub> (Plasma) (L/mmol.s)
30	1	3,7	22,1	25,3
31	2	6,1	29,8	35,7
32	3	2,9	38,2	51,5
33	4	3,5	27,1	29,7
34	5	4,2	20,0	22,4
35	6	6,5	23,2	25,8
36	7	5,0	31,1	37,4
37	16	0,71	38,0	38,3
38	17	0,55	40,6	41,4
Vergleichssubstanz 1	Gd-DTPA	36	13,39	13,97
Vergleichssubstanz 2	Gd-GlyMeDOTA	-	18,3	20,8

Dieses Beispiel zeigt, daß die erfindungsgemäßen Konjugate trotz ihrer geringen Anzahl an Gadoliniumatomen pro Biomolekül überraschend eine höhere Relaxivität als die Vergleichssubstanzen aufweisen. Gegenüber Vergleichssubstanz 2 konnte die Relaxivität durch die spezielle Ligandierung des makrocyclischen Rings gesteigert werden.

Patentansprüche

## 1. Konjugate der Formel I



worin

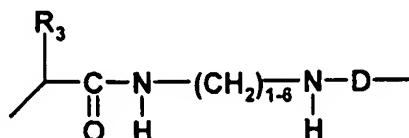
Z ein Wasserstoffatom darstellt oder mindestens zwei Z ein Metallionenäquivalent darstellen,

B ein Wasserstoffatom oder einen  $\text{C}_{1-4}$ -Alkylrest darstellt,

R ein Wasserstoffatom oder einen geraden, verzweigten oder cyclischen, gesättigten oder ungesättigten  $\text{C}_{1-10}$ -Alkyl- oder Arylrest darstellt, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe,  $-\text{SO}_3\text{H}$  oder  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  substituiert ist, und wobei die Alkylkette des  $\text{C}_{1-10}$ -Alkylrestes gegebenenfalls eine Arylgruppe und/oder 1-2 Sauerstoffatome enthält, mit der Maßgabe, daß die Reste B und R nicht beide gleichzeitig Wasserstoffatome darstellen,

A eine gerade oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte  $\text{C}_{1-30}$ -Kohlenwasserstoffkette darstellt, die gegebenenfalls 1-5 Sauerstoffatome, 1-5 Stickstoffatome und/oder 1-5  $-\text{NR}'$ -Reste, worin  $\text{R}'$  wie R definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann, enthält, die gegebenenfalls mit 1-3 Carboxylgruppen, 1-3  $-\text{SO}_3\text{H}$ , 1-3  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  und/oder 1-3 Halogenatomen substituiert ist, bei der gegebenenfalls 1-3 Kohlenstoffatome als Carbonylgruppen vorliegen, wobei die Kette oder ein Teil der Kette ringförmig angeordnet sein kann, und die so ausgestaltet ist, daß X' über mindestens 3 Atome mit dem Stickstoffatom, an das A gebunden ist, verbunden ist,

X' den Rest einer Gruppe X darstellt, die mit einem Biomolekül eine Reaktion eingegangen ist und Bio den Rest eines Biomoleküls darstellt, sowie deren Salze, mit der Maßgabe, daß wenn B ein Wasserstoffatom ist und R ein C<sub>1-4</sub>-Alkylrest ist, A nicht den Rest



darstellt, worin R<sub>3</sub> ein Wasserstoffatom oder ein C<sub>1-4</sub>-Alkylrest ist, D eine gesättigte oder ungesättigte, geradkettige oder verzweigte C<sub>1-4</sub>-Alkylengruppe ist, die gegebenenfalls mit einer Carbonylgruppe unterbrochen oder substituiert sein kann, und D an X gebunden ist.

2. Konjugate nach Anspruch 1, worin R ein Wasserstoffatom, ein geradkettiger oder verzweigter C<sub>1-10</sub>-Alkylrest, ein Cyclohexylrest, -CH<sub>2</sub>-COOH, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-COOH, ein Phenylrest oder ein Rest der Formel -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(O)<sub>n</sub>-(Phenylen)<sub>p</sub>-Y ist, worin m eine ganze Zahl von 1 bis 5 ist, n 0 oder 1 ist, p 0 oder 1 ist und Y ein Wasserstoffatom, einen Methoxyrest, eine Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> darstellt.

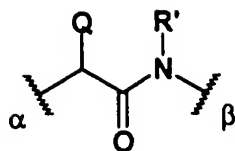
3. Konjugate nach Anspruch 2, worin, wenn B ein Wasserstoffatom ist, R ein Isopropylrest, ein Isobutylrest, ein tert.-Butylrest, ein geradkettiger oder verzweigter C<sub>5-10</sub>-Alkylrest, ein Cyclohexylrest, -CH<sub>2</sub>-COOH, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-COOH, ein Phenylrest oder ein Rest der Formel -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-(O)<sub>n</sub>-(Phenylen)<sub>p</sub>-Y ist, worin m eine ganze Zahl von 1 bis 5 ist, n 0 oder 1 ist, p 0 oder 1 ist und Y ein Wasserstoffatom, einen Methoxyrest, eine Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> darstellt.

4. Konjugate nach Anspruch 3, worin, wenn B ein Wasserstoffatom ist, R ein Isopropyl-, Cyclohexyl- oder Phenylrest ist.

5. Konjugate nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin A einen Rest A'-U darstellt, worin A' an das Stickstoffatom des makrocyclischen Rings und U an X' gebunden ist, und wobei A'

- a) eine Bindung,
- b) -CH(CO<sub>2</sub>H)-,
- c) eine Gruppe der Formel

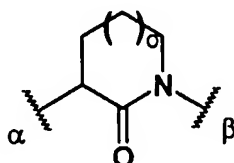
87




worin Q ein Wasserstoffatom, einen C<sub>1-10</sub>-Alkylrest, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe substituiert ist, oder einen Arylrest darstellt, der gegebenenfalls mit einer Carboxylgruppe, einer C<sub>1-15</sub>-Alkoxygruppe, einer Aryloxygruppe oder einem Halogenatom substituiert ist, und R' wie R in Anspruch 1 definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann,

oder

d) eine Gruppe der Formel



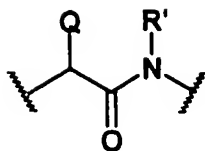
worin o 0 oder 1 ist, und der Ring gegebenenfalls mit einem Benzolring anelliert ist, wobei dieser Benzolring, falls vorhanden, mit einer Methoxy- oder Carboxylgruppe, -SO<sub>3</sub>H oder -PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> substituiert sein kann, darstellt, wobei in den Gruppen unter c) und d) die an den mit  gekennzeichneten Positionen an die benachbarten Gruppen gebunden sind und worin die Position alpha an ein Stickstoffatom des makrocyclischen Rings und die Position beta an U gebunden ist und

U eine gerade oder verzweigte, gesättigte oder ungesättigte C<sub>1-30</sub>-Kohlenwasserstoffkette darstellt, die gegebenenfalls 1-3 Sauerstoffatome, 1-3 Stickstoffatome und/oder 1-3 -NR''- Reste, worin R'' wie R in Anspruch 1 definiert ist, aber unabhängig gewählt werden kann, enthält und bei der gegebenenfalls 1-3 Kohlenstoffatome als Carbonylgruppen vorliegen, wobei die Kette oder ein Teil der Kette ringförmig angeordnet sein kann mit der Maßgabe, daß A' und U zusammen so ausgestaltet sind, daß X' über mindestens 3 Atome mit dem Stickstoffatom, an das A' gebunden ist, verbunden ist.

6. Konjugate nach Anspruch 5, worin für A' die Gruppe der Formel

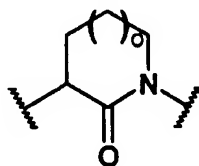


88

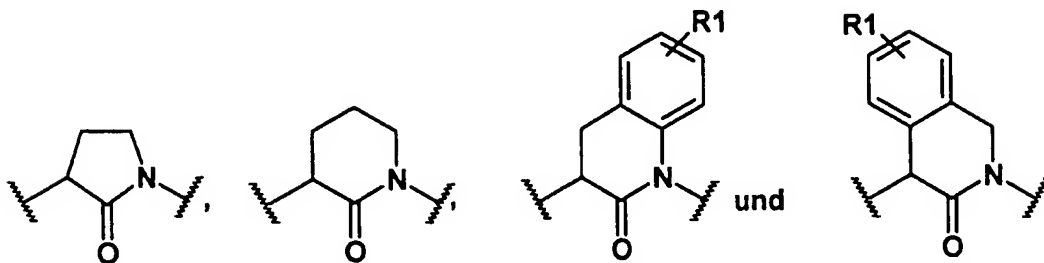


ausgewählt ist aus  $-\text{C}(\text{CH}_3)\text{H}-\text{CO}-\text{NH}-$ ,  $-\text{C}(\text{Phenyl})\text{H}-\text{CO}-\text{NH}-$  und  $-\text{C}(\text{p-Dodecanoxy-phenyl})\text{H}-\text{CO}-\text{NH}-$ .

7. Konjugate nach Anspruch 5, worin für A' die Gruppe der Formel



ausgewählt ist aus:

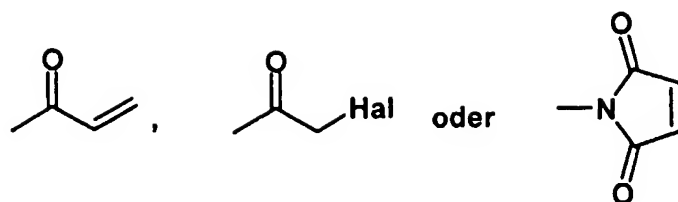


wobei  $\text{R}^1$   $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CO}_2\text{H}$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$  oder  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  ist.

8. Konjugate nach einem der Ansprüche 5-7, worin U ausgewählt ist aus  $-\text{CH}_2-$ ,  $-(\text{CH}_2)_5-$ ,  $-(\text{CH}_2)_{10}-$ ,  $-\text{Phenylen-O-CH}_2-$ ,  $-\text{Phenylen-O-(CH}_2)_3-$ ,  $-\text{Phenylen-O-(CH}_2)_{10}-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{Phenylen-}$ ,  $-\text{Cyclohexylen-O-CH}_2-$ ,  $-\text{Phenylen-}$ ,  $-\text{C(Phenyl)H-}$ ,  $-\text{CH}_2-\text{Pyridylen-O-CH}_2-$ ,  $-\text{CH}_2-\text{Pyridylen-}$  und  $-\text{CH}_2-\text{CO-NH-CH}_2-\text{CH}_2-$ .

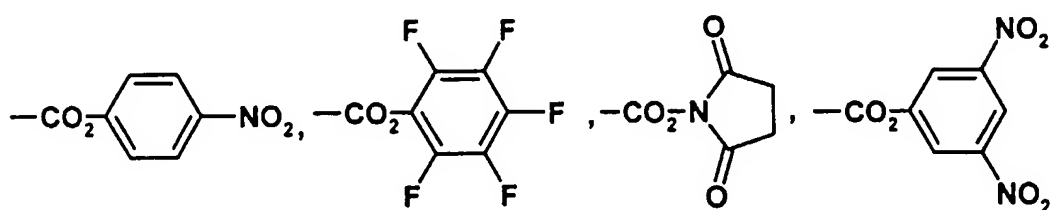
9. Konjugate nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin X' ein Rest einer Gruppe X ist und X ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Carboxyl, aktiviertes Carboxyl, Amino, Isocyanat, Isothiocyanat, Hydrazin, Semicarbazid, Thiosemicarbazid, Chloracetamid, Bromacetamid, Iodacetamid, Acylamino, gemischten Anhydriden, Azid, Hydroxid, Sulfonylchlorid, Carbodiimid und Resten der Formeln

89

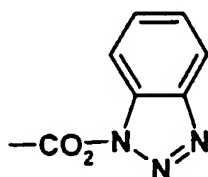


worin Hal ein Halogenatom ist.

10. Konjugate nach Anspruch 9, worin die aktivierte Carboxylgruppe ausgewählt ist aus



und



11. Konjugate nach Anspruch 1, worin es sich um Konjugate von Biomolekülen mit einer der folgenden Verbindungen handelt:

10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-(*t*-Butoxycarbonyl-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylmethoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonylpropoxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-[ $\alpha$ -(4-(Ethoxycarbonyldecyloxy)phenyl)-methoxycarbonylmethyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(*p*-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -trimethyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclo-

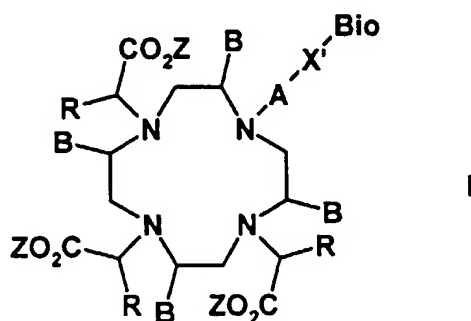
dodecan, 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(p-Carboxybenzyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -triphenyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-(*t*-Butoxycarbonyl-1-phenyl-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -triphenyl-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-azabutyl)-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, 10-(4-Carboxy-1-methyl-2-oxo-3-azabutyl)-2,5,8,11-tetramethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triessigsäure-tri-tert-butylester, 10-[8-(N-Maleimido)-1-methyl-2,5-dioxo-3,6-diazaoctyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(isopropyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan oder 10-[8-(N-Maleimido)-1-methyl-2,5-dioxo-3,6-diazaoctyl]-1,4,7- $\alpha,\alpha',\alpha''$ -tris(cyclohexyl)-1,4,7-tris(carboxymethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.

12. Konjugate nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin das Biomolekül ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Biopolymeren, Proteinen, synthetisch modifizierten Biopolymeren, Kohlenhydraten, Antikörpern, DNA und RNA Fragmenten,  $\beta$ -Aminosäuren, Vektoraminen zur Einschleusung in die Zelle, biogenen Aminen, Pharmazeutika, onkologischen Präparaten, synthetischen Polymeren, die auf ein biologisches Target gerichtet sind, Steroiden, Prostaglandinen, Taxol und dessen Derivaten, Endothelinen, Alkaloiden, Folsäure und dessen Derivaten, bioaktiven Lipiden, Fetten, Fettsäureestern, synthetisch modifizierten Mono-, Di- und Triglyceriden, Liposomen, die an der Oberfläche derivatisiert sind, Micellen aus natürlichen Fettsäuren oder aus Perfluoralkyl-Verbindungen, Porphyrinen, Texaphrinen, erweiterten Porphyrinen, Cytochromen, Inhibitoren, Neuramidasen, Neuropeptiden, Immunomodulatoren, Endoglycosidasen, Substraten, die durch die Enzyme Calmodulin Kinase, Casein-Kinase II, Gluthathion-S-Transferase, Heparinase, Matrix Metalloproteinasen,  $\beta$ -Insulin-Receptor-Kinase, UDP-Galactose 4-Epimerase, Fucosidasen, G-Proteine, Galactosidasen, Glycosidasen, Glycosyltransferasen und Xylosidase attackiert werden, Antibiotika, Vitaminen und Vitamin-Analoga, Hormonen, DNA-Interkalatoren, Nucleosiden, Nucleotiden, Lektinen, Vitamin B12, Lewis-X und Verwandten, Psoralenen, Dientrienantibiotika, Carbacyclinen, VEGF, Somatostatin und dessen Derivaten, Biotin-Derivaten, Antihormonen, tumorspezifischen Proteinen und Synthetika, Polymeren, die sich in sauren oder basischen Bereichen des Körpers anreichern, Myoglobinen, Apomyoglobinen, Neurotransmitterpeptiden, Tumornekrose-Faktoren, Peptiden, die sich in entzündeten

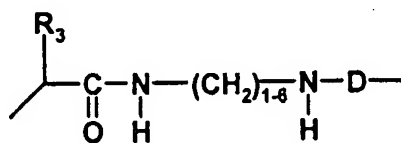
Gewebe anreichern, Bloodpool-Reagentien, Anionen und Kationen-Transporter Proteinen, Polyestern, Polyamiden und Polyphosphaten.

13. Konjugate nach einem der vorhergehenden Ansprüche, worin mindestens zwei der Reste Z für ein Metallionenäquivalent eines radioaktiven oder paramagnetischen Elements der Ordnungszahlen 21-29, 31, 32, 37-39, 42-44, 46, 47, 49, 58-71, 75, 77, 82 oder 83 stehen.

14. Verfahren zur Herstellung eines Konjugats der Formel I

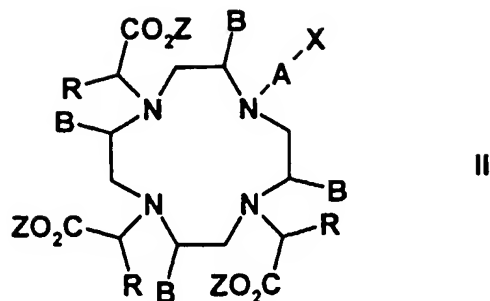


worin Z, B, R, A, X' und Bio wie in Anspruch 1 definiert sind, mit der Maßgabe, daß B und R nicht gleichzeitig Wasserstoffatome darstellen, und daß, wenn B ein Wasserstoffatom ist und R ein C<sub>1-4</sub>-Alkylrest ist, A nicht den Rest



darstellt, worin R<sub>3</sub> ein Wasserstoffatom oder ein C<sub>1-4</sub>-Alkylrest ist, D eine gesättigte oder ungesättigte, geradkettige oder verzweigte C<sub>1-4</sub>-Alkylengruppe ist, die gegebenenfalls mit einer Carbonylgruppe unterbrochen oder substituiert sein kann, und D an X gebunden ist, worin eine Verbindung der Formel II

92

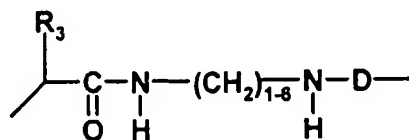


worin Z, B, R und A wie vorstehend definiert sind und X eine Gruppe darstellt, die mit einem Biomolekül eine Reaktion eingehen kann, mit einem Biomolekül umgesetzt wird und anschließend wenn gewünscht in an sich bekannter Weise mit mindestens einem Metalloxid oder Metallsalz eines gewünschten Elements umgesetzt wird und gegebenenfalls anschließend in den so erhaltenen Komplexen noch vorhandene acide Wasserstoffatome ganz oder teilweise durch Kationen von anorganischen und/oder organischen Basen, Aminosäuren oder Aminosäureamiden substituiert werden.

15. Pharmazeutisches Mittel enthaltend mindestens ein physiologisch verträgliches Konjugat nach Anspruch 13 gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen.

16. Verwendung eines Konjugats nach Anspruch 13 zur Herstellung von Mitteln für die NMR- oder Radiodiagnostik oder die Radiotherapie.

17. Kit zur Herstellung von Radiopharmaka, umfassend a) ein Konjugat nach einem der Ansprüche 1-12, worin Z Wasserstoff ist und mit der Maßgabe, daß wenn B ein Wasserstoffatom ist und R ein C<sub>1-4</sub>-Alkylrest ist, A auch den Rest



darstellen kann, wobei R<sub>3</sub> und D wie in Anspruch 1 definiert sind, und b) eine Verbindung eines radioaktiven Elements der Ordnungszahlen 26, 27, 29, 31, 32, 37-39, 43, 46, 47, 49, 61, 62, 64, 67, 70, 71, 75, 77, 82 und 83.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**